



Dottorato di Ricerca in Ambiente Salute e Processi Ecosostenibili

XXIV Ciclo

**STUDIO DELLA STRUTTURAZIONE DELLA
FASE OLEOSA DI EMULSIONI W/O A BASE DI
OLIO D'OLIVA**

**S.S.D. ING-IND/24
PRINCIPI DI INGEGNERIA CHIMICA**

Coordinatore del Dottorato

Prof. Bruno de Cindio



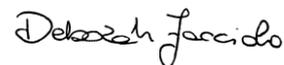
Supervisore

Prof. Bruno de Cindio



Dottoranda

Deborah Facciolo



A.A. 2011-2012

INTRODUZIONE	1
CAPITOLO I	5
1.1. Le emulsioni.....	5
<i>Caratteristiche degli emulsionanti e dei tensioattivi.</i>	<i>7</i>
<i>Applicazioni industriali.....</i>	<i>10</i>
1.2. La reologia.	11
<i>La reologia delle emulsioni</i>	<i>15</i>
1.3. La strutturazione delle emulsioni.	18
<i>Emulsioni strutturate O/W</i>	<i>20</i>
<i>Emulsioni strutturate W/O per applicazioni alimentari.....</i>	<i>22</i>
<i>Emulsioni gelificate</i>	<i>28</i>
CAPITOLO II.....	31
2.1. Le margarine.	32
<i>Margarine e sostituti delle margarine: stato dell'arte.....</i>	<i>33</i>
<i>Emulsioni W/O con burro di cacao</i>	<i>38</i>
<i>Caratterizzazione reologica di margarine commerciali</i>	<i>41</i>
2.2. Gli organogelatori	41
CAPITOLO III	44
3.1. Caratterizzazione reologica.....	46
<i>Trattamento dei dati.....</i>	<i>46</i>
3.2. Metodo di emulsionamento.	47
<i>Stabilità dell'emulsione.</i>	<i>47</i>
3.3. Calorimetria a scansione differenziale: DSC.	48
3.4. Materiali e metodi.	49
<i>Preparazione della fase grassa cristallina.....</i>	<i>49</i>
<i>Preparazione delle emulsioni</i>	<i>50</i>
<i>Misure sperimentali.</i>	<i>51</i>
<i>Misure reologiche</i>	<i>51</i>
<i>Misure calorimetriche.</i>	<i>52</i>
<i>Analisi di microscopia.....</i>	<i>52</i>
3.5. Risultati e Discussione.	53
<i>Risultati della caratterizzazione reologica.....</i>	<i>53</i>
<i>Risultati delle misure calorimetriche.....</i>	<i>62</i>
<i>Risultati dell'analisi di microscopia.</i>	<i>63</i>
CAPITOLO IV	68
4.1. Caratterizzazione reologica.....	70
4.2. Materiali e metodi	71
<i>Preparazione dei campioni</i>	<i>71</i>

<i>Misure reologiche</i>	73
4.3. Risultati e discussione	74
<i>Steady Shear Temperature Ramp Test</i>	74
<i>Dynamic Temperature Ramp Test</i>	79
CONCLUSIONI	89
BIBLIOGRAFIA	94

Ringraziamenti:

Il primo ringraziamento va al mio supervisore, Prof. Bruno de Cindio, per la disponibilità e la grande professionalità con cui mi ha indirizzato e consigliato nel lavoro di dottorato e anche per le sue indiscusse qualità umane e per la sua sensibilità.

Un grazie particolare alla Dott.ssa Francesca Romana Lupi per l'incoraggiamento, l'attenzione e i consigli elargiti e al dott. Domenico Gabriele per le sue attente puntualizzazioni.

Voglio anche ringraziare gli amici del Laboratorio di Reologia ed Ingegneria Alimentare del Dipartimento di Modellistica per l'Ingegneria, Noemi, Lucia, Pasquale, Riccardo, Stefania e Orietta per i bei momenti trascorsi insieme.

Sono anche molto grata al Prof. Crispulo Gallegos Montes e ai membri del "Departamento de Ingeniería Química, Química Física y Química Orgánica", dell'Universidad de Huelva (Spagna), per l'opportunità datami. Un grazie particolare al "gruppo di lavoro", Cristina, Mirta y Anabel, con cui ho condiviso momenti di impegno, discussione e allegria.

Un grazie di cuore al mio "personal coach", Rosa, per il continuo incoraggiamento e infine, ma non per ultimi, grazie a mio marito Glauco e alla nostra amata Michela.

Deborah Facciolo

INTRODUZIONE

Le emulsioni sono sistemi eterogenei di due fasi immiscibili, una delle quali è dispersa nell'altra sotto forma di gocce. La fase dispersa, in accordo alla disposizione delle fasi, può essere oleosa, formando emulsioni O/W, o acquosa formando emulsioni W/O (o, ancora, emulsioni multiple O/W/O o W/O/W). La maggior parte dei sistemi eterogenei è composta da un mezzo continuo che ha una o più fasi disperse. Alcuni esempi possono essere: le emulsioni O/W, come la maionese (Kokini e van Aken, 2006), gli oli lubrificanti e il latte (Gabriele et al., 2009) che hanno una dimensione di goccia compresa tra 0.5 e 5 μm ; le emulsioni W/O, come il burro, le margarine e i succhi concentrati (Buffo e Reineccius, 2002) che presentano una dimensione di goccia tra 1 e 3 μm . Le emulsioni sono molto importanti per un gran numero di applicazioni industriali, come ad esempio quella farmaceutica (Masmoudi et al., 2006), cosmetica (Förster e Herrington, 1998) e per la conservazione dell'arte (Carretti et al., 2005), oltre che nell'industria alimentare (Friberg, Larsson, 1976; McClements, 1999).

In generale, le sostanze alimentari si possono raggruppare in un'unica classe di materiali, se si pensa che gli alimenti sono costituiti da una fase continua liquida in cui sono dispersi altri componenti. La fase continua è spesso acquosa (maionese, marmellata) o oleosa (burro, margarina), mentre gli altri componenti possono essere altri liquidi immiscibili, cristalli liquidi, fibre, lunghe catene organiche. L'analisi strutturale di questi sistemi ha mostrato chiaramente l'esistenza di una struttura operante a livello sopramolecolare costituita da goccioline, particelle solide di diverse forme, fibre, macromolecole, micelle, lamelle ed altro; tale struttura è responsabile del comportamento reologico, indipendentemente dal tipo di forze che la rendono possibile e che vengono rilevate come intensità. Lo studio reologico definisce equazioni costitutive o modelli diversi dalle semplici leggi lineari, quali la legge di Hooke e quella di Newton, che sono considerate casi limite di un più generale comportamento dei materiali e la reometria consente, attraverso l'acquisizione dei dati sperimentali, la valutazione dei parametri materiali rappresentativi dell'equazione costitutiva.

Nel campo dell'industria alimentare è assolutamente necessario valutare il comportamento reologico delle emulsioni per migliorare i numerosi aspetti che determinano una maggiore gradevolezza dell'alimento, come ad esempio cremosità, spessore, morbidezza,

spalmabilità, capacità di versamento e fluidità. Numerosi lavori hanno già valutato il legame tra le variabili di processo e le caratteristiche reologiche delle emulsioni alimentari (Ambrosone et al., 2007; Borwankar et al., 1992; Criado et al., 2007; Gabriele et al., 2009; Singh et al., 2003). Nonostante ciò, le conoscenze di base sulle proprietà strutturali di un'emulsione sono ancora in corso, a causa della complessità intrinseca di tali materiali che solleva in modo permanente una serie di questioni fondamentali che riguardano la fisica, la chimica e la biologia.

Un'emulsione strutturata è un sistema multifase complesso, caratterizzato da interazioni, tra gocce, che si possono realizzare in diversi modi: concentrando progressivamente la fase dispersa interna fino al raggiungimento del massimo grado di impaccamento o aggiungendo diversi agenti alla fase continua (Gabriele et al., 2009). Le emulsioni alimentari, se l'acqua è la fase continua, possono essere strutturate da polisaccaridi o proteine o idrocolloidi in generale. La strutturazione delle emulsioni W/O è una tecnica ben nota nella produzione di margarina o grassi, che sono ingredienti molto importanti per la cucina o per la produzione industriale di pasticceria. Con una percentuale di grasso inferiore all' 80%_{w/w} le emulsioni W/O, chiamate "spread", non possono essere considerate margarine, ma possono essere commercializzate come grassi spalmabili. Una tecnica molto promettente, alternativa all'idrogenazione, è quella di creare un network cristallino di acidi grassi saturi che possano inglobare le gocce d'acqua. Negli ultimi anni gli organogel sono stati utilizzati in molteplici applicazioni tra cui la strutturazione e la stabilizzazione di emulsioni W/O. L'importanza degli organogel dipende dal fatto che questi sono una sorta di liquido organico intrappolato in una rete termo-reversibile, tridimensionale di gel, formata dall'autoassemblaggio di molecole di organogelatore (Marangoni (2009).

Tecnicamente, i migliori organogelatori noti sono i TAG, i DAG, i MAG, gli acidi grassi, gli alcoli grassi, le cere, gli esteri di cera, il monostearato di sorbitano, o la miscela di acidi grassi e alcoli grassi, la lecitina, il sorbitano tristearato, i fitosteroli e l'orizanolo. Questi organogel hanno numerose funzionalità, incluso l'aumento della consistenza del prodotto finale, la stabilizzazione delle emulsioni, la restrizione della mobilità dell'olio e la capacità di controllare la velocità di rilascio nutraceutico (Frasch-Melnik et al. 2009). Più specificamente, i suddetti organogelatori o loro miscele sono ben noti per le loro capacità di strutturare oli edibili. Non è però sempre permesso aggiungere agli alimenti qualunque tipo di organogelatore. Inoltre, la scoperta che i grassi trans sono di gran lunga peggiori dei grassi saturi ha indotto le industrie alimentari a rimuovere tutti i grassi di tipo trans dai loro

prodotti e molti produttori hanno risposto semplicemente reintroducendo grassi saturi negli alimenti (Hughes et al., 2009). E' stato però ampiamente dimostrato che l'eccessivo consumo sia di grassi trans che di grassi saturi è deleterio per gli effetti sulla salute, inclusi effetti negativi sui profili delle lipoproteine (colesterolo), e aumenti nell'incidenza di malattie cardiache e sindromi metaboliche. A causa della mancanza di organogelatori che siano utilizzabili nell'industria alimentare con un riscontro positivo sulla salute e che possano creare un network simile a quello dei network colloidali dei cristalli grassi. (Rogers et al., 2009), si è dedotto che uno dei problemi più rilevanti per i progettisti alimentari è la sostituzione di cristalli grassi di tipo trans (TFA) con strutture diverse che diano le stesse caratteristiche reologiche, ma che producano al tempo stesso cibi salutari (Norton, 2009). Per quanto riguarda i grassi spalmabili, alcuni autori (Lupi, 2010) hanno proposto di utilizzare l'olio d'oliva che è una miscela di diversi trigliceridi insaturi ed è quindi considerato parte della dieta mediterranea corrispondente ad un sano regime alimentare. In tale modo, un'emulsione W/O strutturata a base di olio di oliva potrebbe essere considerata un valido sostituto delle margarine, classicamente usate nella produzione di prodotti da forno, lievitati e paste sfoglie.

Alla luce di quanto esposto, il mio programma di dottorato di ricerca è incentrato principalmente sulla valutazione dell'effetto dell'aggiunta di grassi duri e di emulsionanti sulla cristallizzazione e sulla strutturazione della fase oleosa di emulsioni alimentari W/O. In primo luogo, l'obiettivo è caratterizzare microscopicamente e reologicamente la fase oleosa, avente una concentrazione elevata ($\geq 65\%$) di olio di oliva, strutturata con una fonte naturale di grassi liberi da acidi grassi di tipo trans. Per questa parte saranno preparate tre fasi grasse cristalline, utilizzando $73.9\%_{w/w}$ di un olio di oliva vergine commerciale, come inspesente $22.7\%_{w/w}$ di burro di cacao e come emulsionante $3.4\%_{w/w}$ di mono e digliceridi degli acidi grassi (Myverol 18 04) Per valutare l'effetto dell'invecchiamento, i campioni saranno testati a 1, 7 e 21 giorni di conservazione e poi sottoposti alla caratterizzazione reologica, calorimetrica e di microscopia. In un secondo momento, si intende valutare il comportamento reologico di due differenti emulsioni, a diverso contenuto di burro di cacao: Emu10 ($75\%_{w/w}$ di un olio vergine di oliva commerciale, $10\%_{w/w}$ di burro di cacao, $3\%_{w/w}$ di mono e digliceridi degli acidi grassi e $12\%_{w/w}$ di fase acquosa) e 20%_{w/w} Emu20 ($65\%_{w/w}$ di un olio vergine d'oliva commerciale, $20\%_{w/w}$ di burro di cacao, $3\%_{w/w}$ di mono e digliceridi degli acidi grassi e $12\%_{w/w}$ di fase acquosa). Tali risultati saranno confrontati con quelli di un grasso alimentare esistente sul mercato, al fine di verificare una potenziale

applicazione come sostitutivo salutare dei grassi alimentari. Successivamente, si proseguirà lo studio della fase oleosa cristallina, condizionandola su un reometro con un sistema di raffreddamento di tipo Peltier. Si studieranno più approfonditamente i meccanismi dell'onset di cristallizzazione al variare della sua composizione. Saranno effettuati Steady Shear Temperature Ramp Test e Dynamic Temperature Ramp Test alla frequenza di 1 Hz, sia sugli ingredienti singoli (olio d'oliva e burro di cacao) che su sistemi bi e tri-componenti.

I risultati attesi dal mio lavoro di dottorato sono quelli della messa a punto di una metodologia di strutturazione della fase oleosa di un emulsione W/O, con lo scopo di produrre grassi dietetici a basso contenuto di colesterolo, come sostituto della margarina che garantisca una bassa quantità totale di grassi aggiunti, rispetto alle margarine utilizzate nella produzione di pasticceria. Ci si attende, inoltre, di poter stimare l'adeguata quantità di burro di cacao come funzione del quantitativo di organogel adottato.

CAPITOLO I

1.1. Le emulsioni.

Le emulsioni sono sistemi eterogenei di due fasi immiscibili, una delle quali è dispersa nell'altra sotto forma di gocce. Un'emulsione è indicata dal simbolo O/W se un liquido organico (un "olio") è disperso in una soluzione acquosa continua e da W/O se la fase continua è l'olio. Le emulsioni più complicate sono chiamate emulsioni multiple. Un esempio è l'emulsione doppia O/W/O in cui le gocce di olio contenute nelle gocce acquose sono disperse in una fase oleosa continua (Pal, 2007). La fase dispersa, in accordo alla disposizione delle fasi, può essere oleosa, formando emulsioni O/W, o acquosa formando emulsioni W/O (o, ancora, emulsioni multiple O/W/O o W/O/W). La maggior parte dei sistemi eterogenei è composta da un mezzo continuo che ha una o più fasi disperse. Alcuni esempi possono essere: le emulsioni O/W, come la maionese, gli oli lubrificanti e il latte che hanno una dimensione di goccia compresa tra 0.5 e 5 μm ; le emulsioni W/O, come il burro, le margarine e le creme alimentari che presentano una dimensione di goccia tra 1 e 3 μm ; l'asfalto in emulsione acquosa con dimensione di goccia che varia tra 2 e 7 μm ; i sistemi polimerici con dimensione di goccia tra 1 e 2000 μm ; le spore in forma di globuli dispersi in una fase eterogenea con dimensione di goccia maggiore di 4 μm ; i minerali dispersi in una fase acquosa in forma di vettore fluido. Se le dimensioni della fase dispersa sono più grandi di quelle indicate, è bene considerare due sistemi differenti piuttosto che un singolo sistema eterogeneo. E', perciò, necessario fare una distinzione tra i diversi sistemi. Se le particelle disperse sono liquide, il sistema è un'emulsione, se sono solide, con dimensione maggiore di 1 μm , si tratta di una sospensione mentre se le particelle disperse hanno una dimensione minore di 1 μm , il sistema è una dispersione. Le dispersioni sono sistemi colloidali con un diametro medio delle particelle compreso tra 1 nm e 1 μm , per cui devono essere tenute in considerazione, le forze di van der Waals e di London, il movimento di agitazione termica, le forze idrodinamiche e le forze di campo (Riley, 2005). Un colloide è una molecola o una particella polimolecolare dispersa in un mezzo con, almeno in una direzione, una dimensione compresa tra 1 nm e 1 μm ; sia le fibre, in cui solo due dimensioni sono in questo range, che i film sottili, con una dimensione che ricade in questo intervallo possono essere classificati come colloidali. I

limiti di dimensioni sopra riportati possono variare in molti casi poiché dipendono, in qualche misura, dalle proprietà prese in considerazione (Vincent, 2005).

Un parametro importante per identificare la composizione volumetrica delle emulsioni è la frazione volumetrica della fase dispersa (ϕ) che è pari al volume delle gocce dell'emulsione (VD) diviso il volume totale dell'emulsione (VE): $\phi = VD/VE$. La concentrazione volumetrica è più importante rispetto alla concentrazione della massa perché il campo di flusso è influenzato dalla dimensione della fase dispersa e non dal suo peso. Per tale concentrazione esiste un limite superiore che dipende da forma, dimensioni e distribuzione delle dimensioni delle gocce. Inoltre, se si considera il parametro ϕ , non ci sono differenze tra le emulsioni e le sospensioni: il disturbo al campo idrodinamico rimane lo stesso e, in entrambi i casi, si possono formare flocculi e agglomerati. In un'emulsione liquida, le gocce e/o i cristalli liquidi sono dispersi in un liquido e il diametro della goccia spesso eccede in dimensioni i limiti per i colloidali.

Le emulsioni sono sistemi colloidali instabili, che tendono a separarsi in fasi distinte: il processo tramite cui si passa da una emulsione instabile alla reale separazione delle due fasi avviene tramite la formazione di particelle di dimensioni maggiori; ciò si realizza attraverso due meccanismi: flocculazione e coalescenza. Dall'emulsione sia iniziale che flocculata può lentamente affiorare una fase cremosa, tale fenomeno è conosciuto con il nome di affioramento o "creaming".

La coalescenza è invece il processo di unione di due o più gocce di emulsione fino all'ottenimento di gocce di dimensioni macroscopiche che possono anch'esse affiorare. Dopo la coalescenza si giunge alla "rottura" dell'emulsione, cioè alla formazione di due fasi completamente distinte fra loro. Inoltre, si ha disgregazione quando per azione meccanica si ottengono emulsioni con gocce di dimensioni minori.

L'affioramento è un fenomeno in cui si osserva un movimento verso l'alto delle gocce, che vanno a formare uno strato concentrato superiore, ma senza variare le proprie dimensioni. Su queste gocce agiscono tre forze: la forza di gravità, diretta verso il basso; la spinta di Archimede, diretta verso l'alto e la forza d'attrito, tra la particella e il mezzo continuo, che sarà tanto maggiore quanto maggiore è la velocità della particella. All'inizio, l'affioramento dà origine a un gradiente verticale di concentrazione ma con l'andare del tempo compare una linea di separazione ben visibile fra la zona cremosa e la parte inferiore. L'affioramento è comunque un fenomeno reversibile nel senso che la distribuzione originale delle gocce può essere ristabilita agitando l'emulsione.

Nel caso della coalescenza, la fusione di due o più gocce di emulsione è irreversibile, così da formare una singola goccia di dimensioni maggiori. Questo processo dipende dalla stabilità del sottile film liquido esistente tra le due gocce e la probabilità che questo film si rompa per collisione dovuta al moto browniano è trascurabile. La coalescenza si verifica di solito quando le due gocce sono molto vicine per un periodo di tempo piuttosto lungo, dell'ordine delle centinaia di secondi; in questo modo, il film esistente tra le due gocce si assottiglierà fino a uno spessore critico aumentandone, di conseguenza, la probabilità di rottura. I processi che contribuiscono alla coalescenza sono l'assottigliamento e la rottura del film. Nel primo caso, due gocce avvicinandosi distorcono la loro superficie formando un sottile film di liquido. Il film di liquido tra le due gocce è sottoposto ad un drenaggio verso la fase di bulk a causa delle sue dimensioni capillari. L'assottigliamento genera così una pressione all'interno del film che si oppone alla pressione capillare fino al raggiungimento di uno spessore di equilibrio dell'ordine di 30-50 nm, rendendo il film stabile in maniera quasi definitiva. La rottura del film, invece, è dovuta a piccole casuali variazioni dello spessore del film stesso e dipende sostanzialmente da tre fattori: la tensione superficiale: tanto più piccola è la tensione superficiale tanto maggiore è la probabilità di rottura; l'energia di repulsione fra le gocce: tanto più piccola è questa energia tanto maggiore è la probabilità di rottura; la superficie della goccia: tanto maggiore è la superficie tanto maggiore è la probabilità di rottura. Per ovviare alla naturale instabilità delle emulsioni e ridurre la possibilità delle gocce di unirsi si procede alla stabilizzazione. La stabilizzazione di un'emulsione è ottenuta facendo adsorbire all'interfaccia olio/acqua un terzo componente, ossia un emulsionante. Si distinguono quattro classi di agenti emulsionanti: 1) elettroliti inorganici semplici, i cui ioni possono essere preferibilmente adsorbiti all'interfaccia, formando un doppio strato elettrico e contribuendo alla repulsione fra le gocce; 2) tensioattivi, che adsorbiti all'interfaccia formano una barriera, di tipo sterico, che si oppone alla coalescenza; 3) stabilizzanti macromolecolari (proteine, polisaccaridi, polimeri sintetici), che conferiscono all'emulsione maggiore stabilità cinetica; 4) solidi finemente suddivisi, che aderiscono all'interfaccia fra le due fasi.

Caratteristiche degli emulsionanti e dei tensioattivi.

Un'emulsione può essere stabilizzata, ritardando la coalescenza, introducendo un agente emulsionante o un tensioattivo adsorbito attraverso la superficie della fase di dispersione delle gocce. Gli emulsionanti sono molecole anfifiliche (con una testa idrofila e una coda

lipofila), che si adsorbono all'interfaccia, abbassando la tensione superficiale e consentendo la stabilizzazione delle gocce. L'adsorbimento è associato a notevoli cambiamenti energetici poiché l'energia libera di una molecola di tensioattivo situata all'interfaccia è inferiore a quella di una molecola solubilizzata nelle fasi di bulk. I veri tensioattivi si distinguono per la capacità di formare, all'interfaccia, monostrati orientati (aria/acqua o olio/acqua) e soprattutto, nelle fasi di bulk, strutture che si aggregano in maniera autonoma (micelle, vescicole). Infine, un'altra caratteristica dei tensioattivi è la loro capacità di formare fasi cristalline liquide quando la loro concentrazione in acqua supera circa il 40% (Eastoe, 2005).

Esistono tre categorie di base per i tensioattivi: gli anionici e cationici, che si dissociano in acqua in due specie di carica opposta (lo ione tensioattivo e del suo controione); i non-ionici, che includono una porzione altamente polare (non carica) e gli zwitterionici (o anfoteri), che combinano sia un gruppo positivo che uno negativo. Negli ultimi anni sono state studiate altre categorie: i catanioni (un tensioattivo sia anionico che cationico, che precipita formando cristalli catanionici, capaci di stabilizzare le emulsioni) (Schelero et al., 2009); i “bolaforms” (composti da due teste idrofile collegate da uno o più catene idrofobiche) (Satgé et al., 2004); tensioattivi gemelli o dimerici costituito da due porzioni anfifiliche identiche collegate a livello della testa da un distanziatore (Zhou et al., 2009) e tensioattivi polimerici e polimerizzabili, che combinano le proprietà autoaggreganti dei tensioattivi convenzionali con la reattività chimica dei monomeri vinilici (Schwering et al., 2008).

La concentrazione e la chimica di un emulsionante (Guo et al., 2006, Sajjadi, 2006) sono caratteristiche importanti per la reologia di un'emulsione e per la sua stabilità (Zaki, 1997). Molecole di tensioattivo possono autoaggregarsi formando micelle e la loro formazione sotto forma di goccioline sferiche minimizza l'energia libera del sistema. Un tensioattivo infatti riduce l'energia libera superficiale necessaria per aumentare qualsiasi zona interfacciale, secondo l'equazione dell'energia $\Delta G = \gamma \Delta A$ (Abismaïl et al., 1999).

La concentrazione di un tensioattivo, in cui le singole molecole di tensioattivo iniziano ad autoaggregarsi nella fase bulk formando strutture micellari, è chiamata concentrazione micellare critica (CMC). Le micelle sferiche hanno una dimensione caratteristica e quindi, aumentando la concentrazione del tensioattivo, aumenta il numero di micelle sferiche, ma non la dimensione, che può essere variata modificando la velocità di miscelazione durante il processo di emulsione (Ahmed et al., 1999; Bibette et al., 1999).

Un parametro fondamentale per la scelta dell'emulsionante appropriato che possa stabilizzare l'emulsione desiderata è il valore di HLB. Il rapporto idrofilo-lipofilo è generalmente espresso come un'equazione empirica basata sulle relative proporzioni dei gruppi idrofobi e idrofili all'interno della molecola. Un'equazione empirica generale che associa una costante con i diversi gruppi idrofili e idrofobi è (Eastoe, 2005):

$$HLB = [(n_H \times H) - (n_L \times L)] + 7 \quad [1.1]$$

dove H e L sono costanti assegnate ai gruppi idrofili e idrofobi rispettivamente, e n_H e n_L sono il numero di tali gruppi per molecola di tensioattivo. Generalmente un tensioattivo a basso valore di HLB (<10) può stabilizzare emulsioni W/O, mentre con un valore elevato di HLB stabilizza emulsioni O/W (Salager et al., 2004).

Inoltre l'effetto dell'emulsionante è molto importante per la viscosità dell'emulsione. Sherman (1959) fece una revisione di tutti gli articoli in cui esisteva una relazione tra la viscosità dell'emulsione e la concentrazione dell'emulsionante, concludendo che generalmente all'aumentare della concentrazione dell'emulsionante, la viscosità dell'emulsione aumenta in modo non lineare rispetto alla frazione di volume della fase interna.

Anche la dimensione delle goccioline in sistemi bifasici è molto importante per capire le loro proprietà reologiche. Se le goccioline hanno più o meno la stessa dimensione, l'emulsione è monodispersa, mentre se la dimensione delle goccioline differisce da un valore medio, l'emulsione è polidispersa. Una caratteristica importante per i colloidi è la polidispersità delle loro dimensioni. La scienza pura tende a studiare sistemi monodispersi modello, ma nelle applicazioni pratiche una polidispersione di grandi dimensioni può dare talvolta migliori proprietà al sistema, per esempio, proprietà reologiche preferibili (Vincent, 2005). In particolare, se la distribuzione della dimensione delle goccioline delle emulsioni è quasi monomodale, tutte le goccioline sono caratterizzate da una dimensione media e una deviazione standard o un grado di polidispersità; se, al contrario, l'emulsione è bimodale, essa è caratterizzata da due diversi gruppi di goccioline, ciascuno contraddistinto da un diametro medio delle gocce.

Applicazioni industriali.

Le emulsioni sono molto importanti per un gran numero di applicazioni industriali. Le emulsioni O/W sono anche un buon metodo per il trasporto di petrolio greggio pesante (Saniere et al., 2004), mentre si possono formare emulsioni W/O durante accidentali fuoriuscite di petrolio (Fingas, Fieldhouse, 2004).

Le emulsioni W/O e O/W sono anche coinvolte nella produzione di creme farmaceutiche (Masmoudi et al., 2006) e per la cosmesi (Förster e Herrington, 1998), per la quale devono essere fortemente stabili (anni) e devono mostrare comportamento shear thinning, prevalentemente elastico e bassi sforzi di soglia. Secondo Eccleston (1997) l'importanza delle emulsioni e delle dispersioni in cosmetica è principalmente centrata sulla loro capacità di fornire proprietà terapeutiche agendo come veicoli di farmaci e come agenti cosmetici per la pelle. Inoltre, le proprietà reologiche delle creme, spesso ottenute aggiungendo un addensante polimerico (Miller et al. 1999), si possono distinguere in agente cosmetico (il farmaco o l'agente cosmetico rimangono sulla superficie della pelle), o in agente terapeutico (in questo caso il farmaco penetra lo strato corneo). Pertanto, la formulazione dell'emulsione deve garantire la sicurezza della pelle, avere proprietà non irritanti e deve essere in grado di incorporare co-solventi, antiossidanti ecc.

Un'altra applicazione industriale delle emulsioni è la polimerizzazione soprattutto per la produzione della gomma. Data la crescente necessità di ridurre l'impatto ambientale, questo metodo ha creato molto interesse perché evita l'uso di solventi pericolosi (do Amaral, 2004).

Le emulsioni sono poi ampiamente utilizzate nell'industria alimentare (Friberg, Larsson, 1976; McClements, 1999) e, a seconda del loro comportamento reologico (ad esempio cremosità, spessore, morbidezza, spalmabilità, capacità di versamento e fluidità), hanno svariate applicazioni: il latte, i gelati, le emulsioni lattiero-casearie (Gabriele et al., 2009), il burro, la margarina, le bevande di frutta (Buffo, Reineccius, 2002), le minestre, gli impasti per dolci, la maionese, le creme liquorose, le salse, i dessert, le salse per insalata e il succedaneo del latte per il caffè. In figura 1.1.1 sono schematizzati diversi tipi di emulsioni alimentari (Kokini e van Aken, 2006).

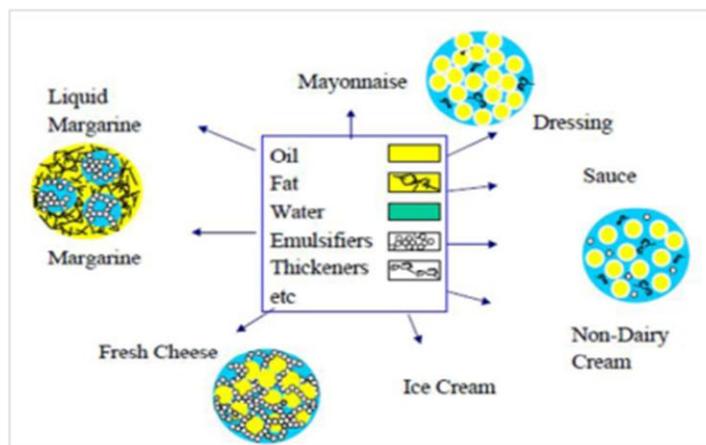


Figura 1.1.1: schema tipico di emulsione O/W e W/O.

1.2. La reologia.

La reologia è la scienza che studia la deformazione ed il flusso dei materiali. Qualsiasi prodotto, compresi quelli di cui facciamo uso quotidianamente, deve presentare caratteristiche adeguate a tutte le fasi del processo produttivo attraverso il quale giunge al consumatore e deve avere una durata nel tempo accettabile per l'uso al quale è destinato. Nel caso degli alimenti, poi, i consumatori, sempre più attenti ai trattamenti subiti dalle materie prime ed esigenti in termini di qualità percepita, hanno reso necessaria un'innovazione dell'intero comparto industriale. È diventato quindi particolarmente importante porre attenzione alle proprietà reologiche, poiché esse permettono una più adeguata progettazione degli impianti ed hanno una notevole importanza in termini di qualità percepita dal consumatore. Finora l'applicazione della reologia all'industria alimentare ha riguardato essenzialmente il controllo dei prodotti finiti, anche se le è ormai riconosciuta l'importanza nella progettazione dei processi e dei materiali.

In generale, le sostanze alimentari si possono raggruppare in un'unica classe di materiali, se si pensa che gli alimenti sono costituiti da una fase continua liquida in cui sono dispersi altri componenti. La fase continua è spesso acquosa (maionese, marmellata) o oleosa (burro, margarina), mentre gli altri componenti possono essere altri liquidi immiscibili, cristalli liquidi, fibre, lunghe catene organiche. L'analisi strutturale di questi sistemi ha mostrato chiaramente l'esistenza di una struttura operante a livello sopramolecolare costituita da goccioline, particelle solide di diverse forme, fibre, macromolecole, micelle, lamelle ed altro; tale struttura è responsabile del comportamento reologico simile,

indipendentemente dal tipo di forze che la rendono possibile e che vengono rilevate come intensità. Lo studio reologico definisce equazioni costitutive o modelli diversi dalle semplici leggi lineari, quali la legge di Hooke e quella di Newton, che sono considerate casi limite di un più generale comportamento dei materiali e la reometria consente, attraverso l'acquisizione dei dati sperimentali, la valutazione dei parametri materiali rappresentativi dell'equazione costitutiva. La reometria usa campi di flusso o di deformazioni controllati (a taglio o elongazionali), noti a priori, a cui il materiale risponde con un campo di sforzi. È anche possibile operare all'inverso, applicando cioè un campo di forze e misurando il risultante campo di deformazione. In entrambi i casi il legame tra questi due campi costituisce la caratteristica reologica del materiale trattato. In generale però un sistema può esibire un comportamento intermedio che combina caratteristiche di tipo solido e di tipo liquido. I solidi reali possono, infatti, subire deformazioni irreversibili e, di conseguenza, mostrare una componente viscosa, quando gli sforzi applicati sono sufficientemente elevati. In tal caso il recupero delle deformazioni non è completo né tanto meno istantaneo. Nei liquidi reali, invece, rimuovendo lo sforzo si può osservare un parziale recupero delle deformazioni, vale a dire una componente elastica (Ferry, 1980). Si parla in questi casi più propriamente di solidi elasto-viscosi o liquidi visco-elastici. Il termine viscoelasticità è usato per descrivere il comportamento che rientra tra gli estremi classici della risposta elastica di Hooke e il comportamento viscoso newtoniano (Barnes et al., 1989). Se il rapporto tra sforzo e deformazione può essere descritta tramite equazioni differenziali lineari a coefficienti costanti, il materiale considerato è viscoelastico lineare, e il rapporto tra lo stress e la deformazione non è correlato con l'intensità dello stress (Ferry, 1980). L'equazione costitutiva di un materiale viscoelastico lineare è (Tanner, 1985):

$$\underline{\underline{\tau}}(t) = \int_{-\infty}^t f(t-t') \underline{\underline{C}}_f^{-1}(t') dt' \quad [1.2]$$

dove $\underline{\underline{\tau}}$ è il tensore degli sforzi, $\underline{\underline{C}}_f^{-1}$ è l'inverso del tensore di deformazione di Cauchy, $f(t-t')$ una funzione di memoria. La linearità si basa sul principio che gli effetti delle variazioni successive sono sommabili sulla deformazione e possono essere integrati per ottenere, come risultato, la tensione totale riportata nell'equazione precedente.

La caratterizzazione reologica di un materiale dovrebbe essere basata su proprietà che non dipendono dalla storia di deformazione: questo può essere ottenuto applicando una cinematica asintotica in cui la risposta ad una sollecitazione non è influenzata dalla storia

deformazione (Ferry, 1980). Quando un materiale viscoelastico è sottoposto ad una deformazione oscillante, la risposta non è in fase con la sollecitazione (comportandosi come un solido) né è completamente fuori fase con un angolo di fase di 90° (comportandosi come un liquido), ma si comporta in un modo intermedio (Steffe, 1996). Così, se il materiale viene sottoposto ad una deformazione a taglio monodimensionale (Ferry, 1980) $\gamma = \gamma_0 \sin \omega t$, dove γ_0 è l'ampiezza della deformazione, ω è la frequenza di oscillazione, e t il tempo, la risposta è $\tau = \tau_0 \sin(\omega t + \delta)$, dove τ_0 è l'ampiezza dello sforzo di taglio e δ , angolo di fase, è un parametro di misurazione della prevalenza del comportamento solido rispetto a quello liquido: se δ tende a 0, il materiale è di tipo solido, se δ tende a 90° è di tipo liquido. Manipolando le due equazioni, si ottiene:

$$\tau = \gamma_0(G' \sin \omega t + G'' \cos \omega t) = G' \gamma + \frac{G''}{\omega} \dot{\gamma} \quad [1.3]$$

$$G' = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \cos \delta \quad \text{e} \quad G'' = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \sin \delta \quad [1.4]$$

G' è il modulo di elasticità o modulo di accumulo ed è funzione della frequenza, indica l'energia accumulata nel materiale per ogni ciclo di deformazione; mentre la funzione G'' , anch'essa funzione della frequenza, è il modulo viscoso o modulo di perdita, una misura della perdita di energia per dissipazione viscosa per ogni ciclo di deformazione. Un'altra funzione materiale utilizzata per descrivere il comportamento viscoelastico è la tangente dello sfasamento o angolo di fase ed è anch'essa funzione della frequenza, $\tan \delta = G''/G'$. Questo parametro è direttamente correlato alla perdita di energia per ciclo diviso l'energia immagazzinata per ciclo. Poiché $0 \leq \delta \leq \pi/2$, $\tan \delta$ può variare da zero a infinito.

La struttura interna degli alimenti forma un reticolo tridimensionale che impedisce al liquido presente di fluire, mentre quest'ultimo previene il collasso del materiale in un'unica massa compatta. Questa struttura è tipica dei cosiddetti “weak gel”, gel deboli caratterizzati dalla presenza di un reticolo tridimensionale tenuto insieme solo da forze deboli tipo Van der Waals o le forze di London. In condizioni di bassi sforzi (o deformazioni) i campi applicati non sono capaci di distruggere il reticolo, per cui gli alimenti si comportano come solidi, viceversa ad alti sforzi (o deformazioni) i legami si rompono ed il materiale fluisce come un liquido. Nei sistemi alimentari le interazioni sono sostanzialmente di tipo fisico e, in caso di sollecitazioni, possono rompersi abbastanza

facilmente; per tale motivo non è possibile individuare delle catene che mantengano inalterata la loro struttura, al contrario si ha una continua rottura e riformazione dei legami. In passato si è cercato di estendere direttamente i risultati ricavati per i polimeri agli alimenti, ma, operando in questo modo, non si teneva conto del fatto che i legami presenti nei polimeri sono di tipo covalente, quindi estremamente forti e difficili da rompere, e che in essi le singole catene mantengono intatta la loro identità, mentre le zone di giunzione degli alimenti possono subire rottura. Nasce, pertanto, l'esigenza di partire dall'esame di sistemi polimerici e di introdurre in essi il caratteristico comportamento debole dei weak gel. Dall'osservazione dei dati sperimentali ottenuti per vari alimenti attraverso misure fondamentali (in particolare dalle prove in oscillatorio), riportati in termini di G' e G'' , in un grafico logaritmico, si può notare che, nella finestra di frequenze tipicamente usata (0.1-100Hz), i moduli dinamici presentano un andamento praticamente lineare. Partendo da queste considerazioni si può pensare di correlare i dati con una legge di potenza del tipo:

$$G^*(T) = \sqrt{G'(T)^2 + G''(T)^2} = A(T) \cdot \omega^{1/z(T)} \quad \text{dove } 0 < 1/z < 1 \text{ e } \omega_1 < \omega < \omega_2 \text{ [1.5]}$$

e in cui si applica un approccio simile a quello proposto da Friedrich e Heymann (1988), ma trascurando la dipendenza dal tempo di rilassamento medio, proprio perché per molti alimenti questa approssimazione non determina un grosso errore. Se si applica l'approccio proposto, a questi materiali, il reciproco dell'esponente della legge di potenza, z , si può interpretare come l'estensione del reticolo tridimensionale, mentre il fattore moltiplicativo A come una misura della forza con la quale le unità reologiche sono correlate fra loro (Gabriele et al., 2001).

Inoltre, dalla letteratura è possibile ricavare informazioni riguardanti la teoria del flusso cooperativo di Bohlin (Bohlin; 1979). Tale teoria fornisce un legame tra la reologia e la microstruttura di un sostanza in flusso, assumendo che all'interno di quest'ultima siano presenti delle unità di flusso formate dall'aggregazione di particelle atomiche o molecolari. Il flusso macroscopico, che si può osservare, diventa così il riallineamento cooperativo di queste unità. La teoria di Bohlin approssima la microstruttura con una griglia di elementi di rilassamento di un solo tipo aventi numero di coordinazione z ; prevede che gli stati disponibili per gli elementi di rilassamento siano due: stato rilassato o stressato. Di questi due stati, quello stressato presenta un contenuto energetico superiore. Utilizzando i metodi della meccanica statistica del non equilibrio, viene ricavata un'equazione cinetica per il

rilassamento dello stress e, attraverso una procedura grafica, tale equazione permette di determinare tutti i parametri del modello di Bohlin. Per un sistema fortemente cooperativo, in cui l'energia cooperativa è grande, ed in condizioni lontane dallo stato stazionario, si ricava che lo sforzo, τ , rilassa secondo la relazione: $(d\sigma/dt = -l/\lambda \cdot \sigma^{z+1})$, in cui σ è lo sforzo normalizzato rispetto al valore iniziale ($\sigma = \tau/\tau_0$), λ è un tempo di rilassamento caratteristico e z il numero di coordinazione. Integrando si ricava $\sigma(t) = (zt/\lambda + 1)^{-1/z}$. Se si considerano valori di tempo maggiori di λ si trova che: $G(t) \propto t^{-1/z}$ per $\lambda < t < (stato\ stazionario)$ o per un esperimento in oscillatorio ad una frequenza $\omega = 1/t$: $G(\omega) \propto \omega^{1/z}$ per $\lambda < 1/\omega < (stato\ stazionario)$. Tale relazione è analoga a quella proposta da Winter per il gel critico o da Friedrich e Heymann in un'opportuna finestra di frequenze (Gabriele et al.; 2001).

La reologia delle emulsioni

Le proprietà reologiche delle emulsioni sono molto importanti per la valutazione della loro stabilità e soprattutto per il loro processamento. La reologia delle emulsioni dipende da diversi fattori. Uno dei lavori più importanti riguardanti il legame tra le variabili di processo e le caratteristiche reologiche delle emulsioni è stato pubblicato da Pal (1998). Nel caso di emulsioni da diluite a moderatamente concentrate, egli assume i moduli G' e G'' come funzione di sette variabili per le emulsioni O/W che hanno interazioni di Coulomb e di van der Waals trascurabili: frequenza (ω), viscosità della fase continua (η_c), raggio delle goccioline (R), concentrazione delle goccioline (numero di densità n), tensione interfacciale ($\gamma_{o/w}$) ed energia termica (KT). Ha inoltre mostrato l'andamento dei moduli G' e G'' con le variabili dopo un'analisi di scala:

$$\frac{G'}{\omega\eta_c} = f(k, \phi, N_{Ca}, N_{Pe}) \quad [1.6]$$

$$\frac{G''}{\omega\eta_c} = f(k, \phi, N_{Ca}, N_{Pe}) \quad [1.7]$$

dove k è il rapporto di viscosità η_d/η_c , $\phi = 4\pi nR^3/3$ è la frazione in volume della fase dispersa, $N_{Ca} = \omega\eta_c R/\gamma_{o/w}$, numero capillare, è il rapporto tra la sollecitazione esercitata su una gocciolina dal flusso e la pressione di Laplace $2\gamma_{o/w}/R$. Per emulsioni moderatamente concentrate $G'/\omega\eta_c$ e $G''/\omega\eta_c$ sono funzione di k , ϕ e N_{Ca} . Per emulsioni

molto concentrate ($\phi > 0,7$) le proprietà reologiche sono controllate dalla struttura del network del sottile film della fase continua. Per i sistemi in cui $\phi > 0,712$, l'analisi di scala del modulo elastico dimostra la funzionalità del modulo soltanto con il numero capillare e con ϕ , come rilevato da Princen e Kiss (Pal, 1998):

$$\frac{G'}{\omega\eta_c} = 1.769N_{Ca}^{-1}\phi^{1/3}(\phi - 0.712) \quad [1.8]$$

Quindi non dipende dal rapporto di viscosità. Grazie al lavoro di Pal, si può concludere anche che lo scaling delle proprietà viscoelastiche rispetto alla dimensione della goccia deve essere fatto diagrammando il modulo di accumulo e quello di perdita contro ω/R^3 , come ha studiato utilizzando due differenti emulsioni, una monomodale e una bimodale. Il comportamento generale delle emulsioni O/W concentrate e altamente flocculate segue un comportamento tipo gel, caratterizzato da un G' di circa un ordine di grandezza superiore a G'' nell'intervallo di frequenza sperimentale per diverse emulsioni alimentari (maionese, condimenti per insalate e così via) (Romero et al., 2008).

I sistemi eterogenei sono difficili da studiare sia dal punto di vista pratico, che da quello sperimentale. Il metodo adottato in tutto il mondo per caratterizzare tali sistemi è un approccio omogeneo, in cui viene analizzato l'effetto della eterogeneità sulla risposta del sistema.

La teoria classica dell'elasticità studia le proprietà meccaniche dei solidi elastici, secondo cui, seguendo la legge di Hooke, lo stress è sempre proporzionale alla deformazione (per piccoli valori di tensione), ma non dipende dalla velocità di taglio. Al contrario, la teoria classica dell'idrodinamica studia le proprietà dei liquidi viscosi seguendo la legge di Newton, per cui la sollecitazione è sempre proporzionale alla velocità di taglio, ma non è una funzione della deformazione. Queste sono leggi lineari, che assumono la proporzionalità diretta tra lo stress e la deformazione, o la velocità di deformazione, qualunque sia lo stress. All'interno di questa struttura lineare può essere accettata una vasta gamma di comportamenti reologici; tuttavia tale struttura è molto restrittiva. L'intervallo di stress in cui i materiali si comportano linearmente è sempre limitato e il limite può essere molto basso. In altre parole, le proprietà del materiale come modulo di rigidità e viscosità può cambiare con la sollecitazione applicata e la deformazione non deve essere elevata. La variazione può avvenire sia istantaneamente o su un lungo periodo di tempo, e può apparire come un aumento o una diminuzione del parametro materiale. Tuttavia, molti

materiali differenti possono comportarsi in modo intermedio tra solidi e liquidi. Infatti, se viene applicato un intervallo molto ampio di stress su uno spettro molto ampio di tempo, o frequenza, possono essere osservate proprietà da liquido nei solidi e proprietà da solido nei liquidi. Di conseguenza possono insorgere difficoltà quando si tenta di etichettare un dato materiale come solido o liquido.

Tra i possibili approcci, quello che permette di determinare sia il comportamento solido che quello liquido è l'approccio viscoelastico. Per ottenere queste informazioni utili, uno strumento molto importante sono test di oscillazione di piccola ampiezza.

La necessità di operare in condizioni di piccole deformazioni deriva dall'esigenza di garantire una risposta del sistema con la sola armonica principale, e trascurare così la presenza di eventuali armoniche di ordine superiore. In tal modo la risposta risulta effettivamente indipendente dalla storia di deformazione ed è una caratteristica del materiale.

Le misure in oscillatorio si prestano molto bene alla caratterizzazione degli alimenti, in quanto sono non distruttive e richiedono tempi di misura generalmente brevi. Generalmente i test in oscillatorio usati per studiare un materiale sono:

-Time Sweep Test, in cui G' e G'' sono determinati in funzione del tempo a temperatura, frequenza e sforzo (o deformazione) costanti; è molto adatto per seguire la variazione di struttura legata al tempo. Il Time Sweep Test è una prova in dinamico a stress (o strain) controllato utilizzata per valutare il tempo di attesa necessario affinché il campione rilassi gli eventuali sforzi dovuti al caricamento sul piatto del reometro e si porti alla temperatura del piatto stesso. Si fissano la temperatura, la frequenza, lo sforzo (o la deformazione) ed il tempo di durata della prova.

- Stress (o Strain) Sweep Test, in cui G' e G'' sono determinati come funzione dello sforzo (o della deformazione) applicato a frequenza e temperatura costanti. Questo tipo di prova consente di determinare la regione di viscoelasticità lineare del materiale: ciò implica la costanza dei moduli G' e G'' con conseguente indipendenza delle proprietà dalla storia di deformazione. Una volta definito l'intervallo suddetto si sceglie un valore di sforzo intermedio da utilizzare nelle prove successive.

-Frequency Sweep Test, in cui G' e G'' sono determinati in funzione della frequenza, a temperatura e sforzo (o deformazione) fissati. Il Frequency Sweep Test è una prova in oscillatorio a sforzo (o deformazione) controllato, che serve a valutare l'andamento dei moduli G' e G'' al variare della frequenza. Si fissa la temperatura e come valore di sforzo si

utilizza quello valutato tramite lo Stress Sweep Test. In base all'andamento riscontrato si procederà all'elaborazione dei dati con il modello reologico più appropriato.

- Time Cure Test, in cui G' e G'' sono valutati in funzione della temperatura a frequenza e sforzo (o deformazione) costanti. È un test molto utile per seguire le variazioni di struttura di un materiale al variare della temperatura. Se negli Stress Sweep, condotti alle varie temperature, si riscontrano valori di sforzo tra loro differenti è opportuno suddividere la rampa termica in intervalli per cui lo sforzo risulti costante, pari a quello relativo alla regione di viscoelasticità lineare.

Il carattere non perturbativo dei test asintotici rende queste prove molto adatte alla caratterizzazione ed all'analisi della struttura degli alimenti.

Nel caso di emulsioni alimentari strutturate, in particolare per studiare le caratteristiche reologiche e la strutturazione di organogelatori, in molti lavori sono stati utilizzati metodi diversi che identificavano le transizioni di fase, la reologia e la morfologia dei cristalli. Ad esempio, Ojijo et al. (2004) hanno studiato un sistema composto da olio d'oliva e monogliceride in funzione della velocità di raffreddamento, utilizzando Dynamic Temperature Ramp Test e Steady Shear Temperature Ramp Test e hanno valutato l'onset di cristallizzazione di tale sistema al variare del contenuto di monogliceride. Ancora, Da Pieve et al. (2010) hanno investigato gli effetti dello shear su un network a base di olio di fegato di merluzzo e monogliceridi, trovando che le condizioni statiche portavano alla formazione di un forte network gelificato. Tarabukina et al. (2009) hanno studiato le differenti modifiche microstrutturali, dovute alle variazioni della shear rate e della temperatura, per l'olio di palma raffreddato in condizioni costanti di shear rate e mantenuto in condizioni isoterme per un ulteriore periodo. Nel 2010, Lupi valutava per la fase oleosa di emulsioni alimentari la variazione della viscosità con la temperatura tramite Steady Shear Temperature Ramp Test con due rampe di raffreddamento diverse. Per comprendere meglio il comportamento in flusso delle fasi oleose con la shear rate, ha condotto differenti Steady Shear Temperature Ramp Test a shear rate fissate, riscontrando diverse modifiche microstrutturali dovute alla shear rate e alle variazioni di temperatura.

1.3. La strutturazione delle emulsioni.

Le conoscenze di base sulle proprietà strutturali di un'emulsione sono ancora in corso, ma la complessità intrinseca di tali materiali solleva in modo permanente una serie di questioni fondamentali che riguardano la fisica, la chimica e la biologia. Nella formulazione di nuovi

sistemi funzionali e strutturati sono rilevanti tre fenomeni: le interazioni di attrazione della gocciolina, la formazione di un network polimerico nella fase continua e la gelificazione per induzione termica di emulsioni stabilizzate.

Un'emulsione strutturata è un sistema multifase complesso, caratterizzato da interazioni, tra gocce, che si possono realizzare in diversi modi: concentrando progressivamente la fase dispersa interna fino al raggiungimento del massimo grado di impaccamento o aggiungendo diversi agenti alla fase continua (Gabriele et al., 2009). Nelle emulsioni alimentari, se l'acqua è la fase continua, la strutturazione può essere promossa da polisaccaridi o da proteine o, in generale, da idrocolloidi. Generalmente è ben riconosciuta la capacità di molti idrocolloidi, in qualità di stabilizzatori e strutturanti/addensanti/gelificanti in un mezzo acquoso, in combinazione con gli agenti ponderali, di rendere compatibili le densità della fase olio e della fase acquosa. L'effetto principale di questi additivi, che sono principalmente dei polisaccaridi, è basato sul controllo della reologia della fase acquosa (Dickinson, 2003). In figura 1.3.1 è mostrata la struttura chimica di due polisaccaridi comunemente usati.

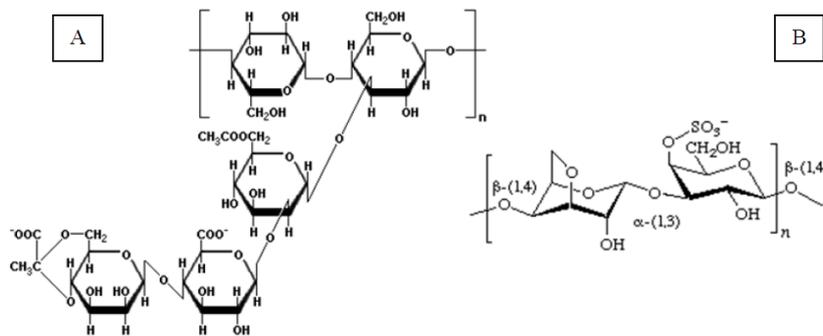


Figura 1.3.1: unità ripetitive della gomma xantana (A) e della k-carragenina (B).

Il loro effetto principale è basato sul controllo della reologia della fase continua acquosa, che è situata negli spazi tra le goccioline disperse. In questo caso un'emulsione strutturata può essere immaginata come una rete di polisaccaridi legati e la spinta idrostatica che agisce su ogni goccia è sufficiente per superare lo sforzo di soglia del gel circostante (Leal-Calderon et al., 2007). Quest'ultima conclusione è sempre vera per le emulsioni diluite, ma per le emulsioni moderatamente concentrate (30%_{v/v} olio) la microstruttura in evoluzione dell'emulsione è altamente eterogenea. Al contrario, nel caso di un sistema diluito (fatto da particelle non interagenti), in cui la fase dispersa sia acquosa, un aumento della sua

strutturazione porta ad un aumento della viscosità dell'emulsione fino ad un valore di plateau dato dall'equazione di Einstein per le sospensioni (Toda e Furuse, 2006). Se la frazione in volume della fase dispersa è maggiore del limite in cui l'equazione di Einstein può essere applicata ($5\%_{v/v}$), le goccioline possono interagire e le caratteristiche reologiche saranno chiaramente differenti come risultato che dà una viscosità di bulk che può superare il plateau descritto dall'equazione di Einstein. Inoltre, una possibile formazione di interconnessioni tra goccioline, data dalla cristallizzazione del grasso, può dare emulsioni altamente viscosi anche a bassi valori di ϕ . Anche la forma delle goccioline ha un ruolo cruciale nelle caratteristiche reologiche delle emulsioni e sospensioni per aumentarne la viscosità.

Per produrre materiali speciali è diventato necessario procedere alla strutturazione delle emulsioni, che può essere ottenuta strutturando la fase acquosa con agenti gelificanti e/o idrocolloidi (Rodriguez-Abreu e Lazzari, 2008), strutturando la fase oleosa tramite la cristallizzazione del grasso (Coupland, 2002) o ancora concentrando la fase dispersa a frazioni volumetriche molto superiori alla frazione in volume ϕ^* , corrispondente all'impaccamento più vicino di una sospensione equivalente costituita da sfere rigide (Pal, 1998a).

Emulsioni strutturate O/W

Le emulsioni strutturate O/W sono per lo più utilizzate nell'ingegneria e nella produzione di prodotti alimentari, ed in effetti la letteratura su questo argomento è per lo più rivolta allo studio emulsioni alimentari. Per le emulsioni O/W, è ben nota la funzione di molti ingredienti idrocolloidali in qualità di agenti strutturanti/addensanti/gelificanti del mezzo acquoso, in combinazione con agenti ponderali, aggiunti per rendere compatibili le densità della fase olio e della fase acquosa. Se l'acqua è la fase continua, come è stato già detto, l'emulsione può essere strutturata con dei polisaccaridi o con delle proteine (Gabriele et al., 2009). La gomma xantana è particolarmente efficace per la sua capacità stabilizzante. Per basse frazioni volumetriche di olio il semplice meccanismo di controllo reologico è già efficace; infatti le singole gocce sono immobilizzate separatamente in un entanglement biopolimerico e la forza di galleggiamento, che agisce su ogni goccia, è appena sufficiente a superare l'effettivo sforzo di soglia della matrice biopolimerica circostante di tipo gel debole (Dickinson, 2009). Per quanto riguarda le emulsioni concentrate, la quantità totale di idrocolloidi presenti nella fase acquosa influenza sia la stabilità che le caratteristiche

reologiche; dipendendo strettamente dall'ammontare totale degli idrocolloidi nella fase acquosa. Per concentrazioni molto basse (minori di 0,1%_{w/w} per la gomma xantana), l'aggiunta di idrocolloidi ha proprietà destabilizzanti poiché causa la diminuzione della flocculazione indotta dall'idrocolloide non adsorbito, determinando di conseguenza un aumento della separazione del siero dall'emulsione (Dickinson, 2009, Blijdenstein et al., 2004a). Nelle bevande, aggiungendo il destrano (Blijdenstein et al., 2004b) o la gomma arabica (Chanamai e McClements, 2006), che sono polisaccaridi non adsorbiti dalle goccioline dell'emulsione, è possibile indurre una riduzione delle interazioni tra le gocce e incrementare la viscosità della fase acquosa (Blijdenstein et al., 2004b). A concentrazioni idrocolloidali superiori (ma minori di 0,1%_{w/w} per la gomma xantana), quando la diminuzione delle interazioni è ancora più evidente, l'affioramento viene inibito a causa del carattere viscoelastico delle regioni di interconnesse tra le gocce, flocculate nel network di tipo gel.

Romero et al. (2008) hanno studiato come la farina di gamberi (fonte di proteine) stabilizzava le emulsioni O/W, trovando che tali emulsioni seguivano un comportamento di tipo gel, caratterizzato da un G' di un ordine di grandezza maggiore di G'' , all'interno dell'intervallo di frequenza investigato. Questo comportamento era caratteristico di emulsioni altamente concentrate, che mostravano flocculazione di tipo "bridging". Sempre per il caso delle emulsioni O/W, Gu e collaboratori (2005) hanno valutato l'influenza del pH ed il tipo di carragenina (ι , k e λ) sulla stabilità di tali emulsioni, mentre Singh et al. (2003) si sono interessati alla produzione di emulsioni O/W composte da una miscela di proteine del latte e k -carragenina. Gli autori trovarono che aggiungendo un quantitativo di k -carragenina maggiore di 0,4%_{w/w}, prima dell'omogeneizzazione, la dimensione media delle gocce aumentava leggermente. L'aggiunta di piccole quantità di k -carragenina (<0,2%_{w/w}) dava flocculazione estesa delle gocce di olio, che portava ad una stabilità di creaming (o affioramento). A maggiori concentrazioni di k -carragenina la stabilità di affioramento aumentava, probabilmente a causa della formazione di un network di gocce flocculate. Per migliorare la viscosità di un'emulsione, è bene considerare anche la forma delle gocce (Marti et al., 2005), per esempio, sostituendo parzialmente le particelle sferiche in una sospensione non-browniana con quelle a forma di fibra. In questo modo, è possibile riscontrare un aumento della viscosità zero shear η_0 , in funzione del rapporto di miscelazione e concentrazione complessiva delle particelle oltre ad un incremento della viscosità relativa η_r all'aumentare del numero delle particelle disperse a forma di fibra

rispetto a quelle di forma rotonda. Wierenga e collaboratori (1998) hanno affermato che le dispersioni acquose di barre di boehmite con due differenti rapporti di forma possono formare gel auto sostenibili a frazioni di volume molto basse, come funzione della concentrazione delle particelle e del cloruro di litio. Inoltre, è stato osservato un aumento del modulo elastico aumentando la frazione volumetrica delle barre. Inoltre, è stata valutata la possibilità di deformare una soluzione di gocce di k-carragenina in olio di girasole sottoposta ad un flusso a taglio, in un canale di deformazione liscio e stretto, con un flusso veloce e continuo, tramite un raffreddamento rapido del sistema fino alla temperatura di gelificazione (Walther et al., 2005). Pertanto, “congelando” la goccia in una forma ellissoidale, sono state variate le condizioni di flusso (e il numero capillare) con la possibilità di modificare le proprietà reologiche dell'emulsione o della sospensione. Tali sistemi, chiamati “emulsioni gelificate” mostrano un comportamento molto interessante, permettendo di convertire un'emulsione in una sospensione di goccioline non sferiche.

Emulsioni strutturate W/O per applicazioni alimentari

La strutturazione delle emulsioni W/O è una tecnica ben nota nella produzione di margarina o grassi, che sono ingredienti molto importanti per la cucina o per la produzione industriale di pasticceria. Con una percentuale di grasso inferiore all' 80%_{w/w} le emulsioni W/O, chiamate “spread”, non possono essere considerate margarine, ma possono essere commercializzate come grassi spalmabili (figura 1.3.2-5) (Borwankar, 1992).

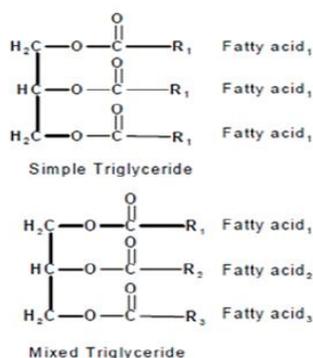


Figura 1.3.2: Trigliceride semplice e misto: nel primo caso la molecola è composta da tre acidi grassi uguali.

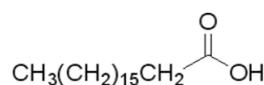


Figura 1.3.3: Acido stearico.

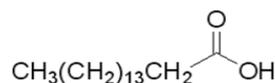


Figura 1.3.4: Acido palmitico.

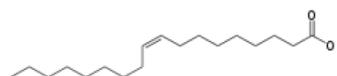


Figura 1.3.5: Acido oleico.

In generale, i grassi che contengono una prevalenza di acidi grassi saturi (SFA) sono solidi a temperatura ambiente, mentre quelli che contengono prevalentemente acidi grassi

insaturi (oli) a temperatura ambiente sono generalmente liquidi (Ghotra et al., 2002). Per raggiungere la consistenza ottimale dell'emulsione deve essere realizzato l'indurimento della fase oleosa, attualmente nei processi industriali alimentari sono impiegati tre metodi differenti: l'idrogenazione parziale di oli vegetali, l'interesterificazione catalitica di oli vegetali e di grassi completamente saturi e l'aggiunta di materiali grassi solidi all'olio liquido di partenza. Tra essi la tecnica più utilizzata è l'idrogenazione catalitica dei doppi legami delle catene degli acidi grassi insaturi. L'idrogenazione industriale di oli vegetali (occasionalmente anche di olio di pesce) è un processo eseguito con un sistema di tre fasi (gas-liquido-solido) generalmente effettuato in un autoclave in batch su di un catalizzatore di nichel sotto forma di impasto a 110-190 °C, 30-70 psi di pressione di H₂ e con 0,01-0,15 %_{w/w} di Ni (Singh et al., 2009). Il processo può implicare lo spostamento dei doppi legami nelle loro posizioni sulla catena di carbonio degli acidi grassi, producendo isomeri posizionali e geometrici, ossia gli acidi grassi di tipo trans (TFA, figura 1.3.6), pericolosi per la salute dei consumatori.

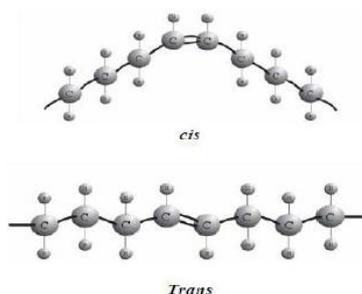


Figura 1.3.6.: configurazioni cis- e trans- di un acido grasso.

Diversi dati indicano che i TFA non sono equivalenti metabolicamente agli isomeri cis naturali e che promuovono lo sviluppo di aterosclerosi e predispongono alle malattie coronariche e ad altri rischi non ben noti (Blanco Muñoz, 2004). La loro formazione può essere minimizzata aumentando la pressione, diminuendo la temperatura ed aumentando l'agitazione per far fronte alle limitazioni dovute al trasferimento di massa. I catalizzatori costituiti da metalli preziosi sono attivi a temperature notevolmente inferiori e possono quindi produrre meno TFA rispetto ai catalizzatori Ni convenzionali, ma non possono evitarne completamente la formazione. L'ordine di attività catalitica dei catalizzatori costituiti da metalli preziosi è Pd>Rh>Pt>Ru (Singh et al., 2009). Gli effetti negativi che i TFA hanno sulla salute dei consumatori ha portato la ricerca a trovare un altro modo per produrre emulsioni strutturate e ad alta viscosità, come sostituto regolare della margarina.

Un processo alternativo, che non produce TFA, è l'interesterificazione catalitica tra un grasso completamente idrogenato e un olio vegetale naturale senza grassi di tipo trans (Criado et al. 2007, Hee Lee et al., 2008). L'interesterificazione consiste nello scambio di un acido grasso tra le due molecole TAG che partecipano a questa reazione, determinando un riarrangiamento dei residui di acido grasso in entrambe queste molecole (figura 1.3.7).

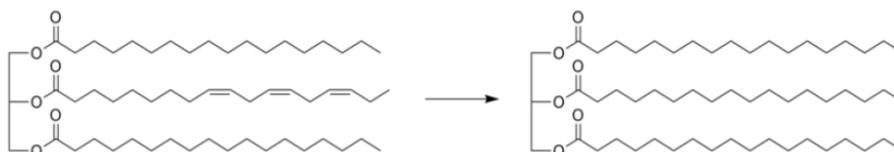


Figura 1.3.7.: Un trigliceride con un acido grasso polinsaturo (acido linoleico) in posizione sn-2 che è sostituito da un acido grasso saturo (acido stearico) tramite interesterificazione.

Tale reazione può essere intramolecolare se lo scambio dell'acido grasso avviene tra due catene nella stessa molecola TAG o extramolecolare se sono coinvolti due TAG. Pertanto, le catene degli acidi grassi saturi provenienti da TAG completamente idrogenati possono sostituire le catene insature di TAG naturalmente presenti nell'olio vegetale. Questi riarrangiamenti sono accompagnati da un cambiamento concomitante delle proprietà della miscela originale. Le proprietà finali del grasso semi-solido sono fortemente influenzate sia dalle proporzioni relative dei reagenti nella miscela originale di partenza, che dal tipo di catalizzatore utilizzato. Normalmente, in questo processo, viene usato un catalizzatore chimico, come il sodio metallico o l'alcoossido di sodio, per promuovere la migrazione del gruppo acilico tra molecole di gliceridi, ma la sua tossicità spinge i ricercatori ad utilizzare gli enzimi per promuovere la reazione. MacRae (1983) suggerisce di utilizzare la lipasi per produrre miscele utili di gliceride, che altrimenti non potrebbero essere ottenute con processi convenzionali di interesterificazione chimica. Kim e colleghi (2009) utilizzano lo stesso enzima, immobilizzato su granuli di silice, al fine di interesterificare l'olio d'oliva con la stearina di palma.

Un altro metodo che potrebbe essere utilizzato per migliorare le caratteristiche meccaniche delle emulsioni W/O è quello di aggiungere dei grassi duri nella fase oleosa liquida con un opportuno emulsionante e agente stabilizzante. Se la fase oleosa è continua, la struttura del sistema bifasico finale potrebbe essere migliorata con l'aggiunta di cristalli di grasso, mentre se ad essere continua è la fase acquosa, dopo il raffreddamento, la forma sferica delle goccioline disperse calde, controllata dalla tensione superficiale, evolve in una

superficie ruvida dovuta alla formazione di cristalli orientati di forma irregolare. Inoltre, i cristalli situati vicino all'interfaccia olio/acqua possono sporgere nella fase continua e quando questi cristalli sono presenti nei film sottili che separano due goccioline, possono perforare la pellicola e creare un ponte nella superficie provocando la parziale coalescenza delle goccioline e, quindi, la gelificazione del sistema (Leal-Calderon et al., 2007). Jahaniaval (2005) suggerisce una nuova metodica per preparare margarine salubri e sostituti del burro a base di oli liquidi (a temperatura ambiente) come l'olio di oliva e fosfolipidi come stabilizzatori. La consistenza finale della margarina risultante viene aumentata se si miscela ad alta temperatura l'olio e gli si aggiunge del grasso duro come: stearina di cotone, stearina di palma e di canola e trigliceridi a punto di fusione intermedio come i grassi intersterificati, burro di cacao o sostituti e qualsiasi grasso frazionato del burro di cacao con punto di fusione tra 34-40 °C.

Skogerson e collaboratori (2007) propongono un brevetto interessante relativo ad un emulsionante gliceridico con un elevato contenuto di digliceridi, che è particolarmente utile nella preparazione di prodotti di pasta sfoglia. I mono e i digliceridi degli acidi grassi (figura 1.3.8) sono un emulsionante molto comune, ampiamente impiegato nell'industria alimentare, ottenuto dalla reazione del glicerolo con olio vegetale e grassi, la cui composizione dipende strettamente dalle caratteristiche del frutto di partenza dal quale l'olio viene estratto (Clogston et al., 2000).

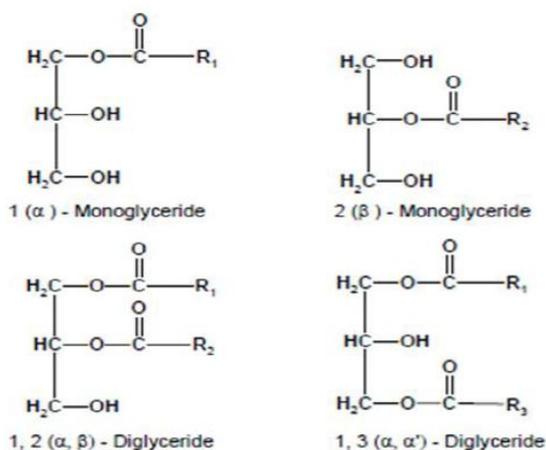


Figura 1.3.8: Diagramma di mono e di gliceridi.

Questo emulsionante è lipofilo ed il suo valore HLB, circa 3.7, dovrebbe consentire la formazione di emulsioni W/O (Constantinides e Yiv, 1994; Friberg, 1997). Di solito i mono e digliceridi commerciali contengono il 40-60% di monogliceridi, il 38-45% di

digliceridi, l'8-12% di trigliceridi, e l'1-7% di glicerolo. In conformità con il loro brevetto, gli autori suggeriscono preferibilmente di aumentare il quantitativo (in peso) di digliceridi fino a circa il 75%, tramite distillazione sotto vuoto, il restante 10% sarà di monogliceridi, mentre il quantitativo di trigliceridi sarà dell'ordine del 15%. Pertanto, l'emulsione W/O può essere preparata miscelando, in base w/w, dal 10% al 16% circa di emulsionante, dal 55% al 65% circa di olio vegetale e dal 13% al 25% circa di grassi saturi.

La presenza di cristalli di grasso è molto interessante proprio per le loro proprietà stabilizzanti. Quando le goccioline di acqua sono disperse nella fase oleosa, con l'aggiunta di una certa quantità di grassi duri, l'emulsione è stabilizzata dai cristalli di grasso disposti all'interfaccia come una emulsione Pickering (Rousseau, 2000). La bagnabilità delle particelle all'interfaccia è descritta dagli angoli di contatto, che sono collegati alla tensione superficiale di ciascuna delle tre interfacce tramite l'equazione di Young:

$$\gamma_{(o/w)} \cos \theta = \gamma_{(o/s)} - \gamma_{(w/s)} \quad [1.10]$$

dove θ è l'angolo di contatto misurato attraverso la fase acquosa e $\gamma_{(o/w)}$, $\gamma_{(o/s)}$ e $\gamma_{(w/s)}$ sono le tensioni interfacciali di olio/acqua, olio/solido e acqua/interfacce solidi rispettivamente. $\gamma_{(o/w)} \cos \theta$ è anche conosciuta come la tensione di adesione. Quando l'angolo di contatto all'interfaccia solido/acqua/olio con la fase acquosa è più piccolo di 90° , le particelle stabilizzano le emulsioni O/W (figura 1.3.9) mentre se l'angolo di contatto è maggiore di 90° , le particelle stabilizzano le emulsioni W/O.

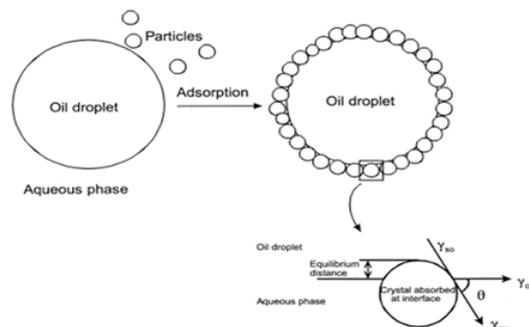


Figura 1.3.9: angolo di contatto di un sistema acqua/olio/cristallo per un'emulsione O/W.

Se le particelle sono completamente bagnate da una delle due fasi (angolo di contatto di 180°), esse diventano completamente disperse in quella fase e ogni effetto stabilizzante è

annullato. Con un angolo di contatto di 90° un cristallo è bagnato nella stessa misura sia dalla fase acquosa che oleosa. Ciò comporta che per le emulsioni O/W, l'angolo di contatto dovrebbe essere $60-70^\circ$ per avere una stabilità ottimale. Ci si aspetta che i cristalli grassi contribuiscano alla stabilità delle emulsioni W/O se essi sono bagnati dalla fase oleosa ($0^\circ < \theta < 90^\circ$), ma se bagnati dalla fase acquosa ($90^\circ < \theta < 180^\circ$) causano instabilità (Johansson et al., 1995). Per sistemi in cui una delle fasi è apolare, l'equazione di Young diventa:

$$\gamma_{(o/w)} \cos \theta = -\gamma_{(o/w)} + C + I_{(s/w)} \quad [1.11]$$

dove

$$C = 2(\sqrt{\gamma_o^d} - \sqrt{\gamma_w^d})(\sqrt{\gamma_o^d} - \sqrt{\gamma_s^d}) \quad [1.12]$$

γ_o^d è la forza di dispersione della fase oleosa, γ_w^d è la forza di dispersione della fase acquosa, $\sqrt{\gamma_s^d}$ è la forza di dispersione della particella e $I_{(s/w)}$ è il termine energetico dovuto alla stabilizzazione tra le forze polari. Johansson et al. (1995) hanno studiato la bagnabilità dei cristalli grassi di tristearina investigando una selezione di emulsionanti (lecitine, monogliceridi e i loro esteri, emulsionanti etossilati) e considerando l'influenza di fattori come il polimorfismo, la temperatura e il tipo di olio. In accordo con Garti et al. (1998), l'emulsionante funge da molecola-ponte per facilitare l'adsorbimento degli agenti molecolari bagnanti. I più comuni trigliceridi usati per aumentare la consistenza della fase oleosa di un'emulsione W/O per la produzione di grassi tramite l'aggiunta di grassi duri sono la tristearina (Garti et al., 1998; Johansson et al. 1995, Ramli et al. 2008). Come già menzionato, Jahaniaval (2005) ha proposto l'aggiunta di burro di cacao o di suoi equivalenti per produrre margarine o shortenings. Norton et al. (2009) hanno prodotto emulsioni W/O stabili con burro di cacao usando un miscelatore ad alto shear o una linea in scala da laboratorio per margarine (scambiatore di calore a superficie ruvida e un agitatore ad asta) in modo da produrre un cioccolato a latte dietetico con basso contenuto di grassi. Gli autori hanno ottenuto emulsioni completamente emulsionate con forma polimorfica $\beta(V)$ richiesta per un'alta qualità alimentare.

Una tecnica molto promettente, alternativa all'idrogenazione, è quella di creare un network cristallino di acidi grassi saturi che possano inglobare le gocce d'acqua. Negli ultimi anni

gli organogel sono stati utilizzati in molteplici applicazioni tra cui la strutturazione e la stabilizzazione di emulsioni W/O. L'importanza degli organogel per le caratteristiche delle emulsioni sono state ben esposte da Marangoni (2009); egli introdusse gli organogel come un liquido organico intrappolato in una rete termo-reversibile, tridimensionale di gel, formata dall'autoassemblaggio di molecole di organogelatore, a concentrazione relativamente bassa (0,5-2%), in lunghe fibre cristalline, chiamata perciò rete fibrillare auto-assemblata (SAFIN). I migliori organogelatori noti sono i TAG, i DAG, i MAG, gli acidi grassi, gli alcoli grassi, le cere, gli esteri di cera, il monostearato di sorbitano, o la miscela di acidi grassi e alcoli grassi, la lecitina, il sorbitano tristearato, i fitosteroli e l'orizanolo. Questi organogel hanno numerose funzionalità potenziali diverse, incluso l'aumento della consistenza del prodotto finale, la sostituzione di grassi saturi e di tipo trans, la stabilizzazione delle emulsioni e la capacità di controllare la velocità di rilascio nutraceutico (Frasch-Melnik et al. 2009). Bot et al. (2009), per esempio, suggeriscono l'uso di una miscela di γ -orizanolo con β -sitosterolo per formare una rete di tubuli in olio che può essere un'alternativa alla rete di piccoli cristalliti di trigliceridi che si presentano nelle strutture regolari dell'olio. Il gel risultante fonde ad una temperatura in cui i tubuli svaniscono e il sitosterolo può essere sostituito da diversi steroli in tubuli.

Più recentemente, sono state preparate emulsioni W/O, usando idrocolloidi gelificanti per indurire la fase acquosa e modificare le proprietà reologiche del sistema finale. In particolare, sono state studiate emulsioni gelificate W/O a base di olio d'oliva, in cui la fase interna è stata strutturata con farina di grano, in modo da avere un ulteriore aumento della consistenza del sistema per ottenere un prodotto che possa essere laminato; il sistema è stato invertito, producendo emulsioni O/W più stabili utilizzando k-carragenina e gomma xantana come agenti gelificanti (Lupi, 2010). Molti Autori hanno studiato le interazioni degli idrocolloidi con gli emulsionanti e gli altri componenti dell'emulsione per aumentare la stabilità e per cambiare le proprietà reologiche. Nel 2005 Knoth e collaboratori hanno studiato emulsioni acqua in olio di girasole, stabilizzate da WPI (proteine di siero di latte isolate) e da gomma xantana, trovando che le emulsioni erano più stabili e con goccioline di dimensione più piccola, quando veniva usata WPI in acqua; inoltre la dimensione delle particelle era ridotta dalla combinazione di WPI con gomma xantana nella fase acquosa.

Emulsioni gelificate

Le proprietà reologiche delle emulsioni possono essere modificate, ad esempio,

migliorando la loro consistenza, producendo anche emulsioni cosiddette “gelificate”. Nel caso delle emulsioni W/O, le emulsioni gelificate sono prodotte da una fase acquosa interna gelificata che si deforma per effetto del gradiente di velocità imposto, come nel caso di una soluzione acquosa di k-carragenina in olio di girasole sotto flusso a taglio in un processo rapido a flusso continuo (Walther et al., 2005). Le goccioline gelificate deformate rimanevano in una forma ellissoidale ottenuta variando le condizioni di flusso con la possibilità di modificare le proprietà reologiche dell'emulsione o della sospensione. Tali sistemi mostrano un comportamento molto interessante, permettendo di convertire una emulsione in una sospensione di goccioline non sferiche.

Nel lavoro di Lupi (2010) sono state preparate delle emulsioni gelificate come emulsioni W/O usando idrocolloidi gelificanti per indurire la fase acquosa e cambiare le proprietà reologiche del sistema finale. Sono state studiate emulsioni gelificate W/O in cui la fase interna era strutturata con farina. Le emulsioni oleose W/O erano preparate con mono e digliceridi degli acidi grassi variando il contenuto di fase acquosa fino ad una concentrazione massima di peso del 30% in modo da produrre un'emulsione con un'alta percentuale di fase oleosa. La fase acquosa era strutturata aggiungendo differenti quantità di farina (fino a 10%_{w/w}), come principali costituenti delle due fasi, acqua distillata e olio vergine d'oliva (De Santis S.p.A., Italia); come emulsionanti mono e digliceridi degli acidi grassi (Myverol 18 04, Kerry Group, Irlanda) e un sorbitano monostearato di poliossietilene (Admul T60 K Kerry Group, Irlanda), come stabilizzanti e come agente strutturante una farina di frumento commerciale (Barilla, Italia) e una farina trattata termicamente (gentilmente fornita da Soavegel s.r.l, Italia); inoltre, sono stati usati due agenti gelificanti (κ -carrageina, Sigma, Germania e gomma xanthana, Danisco, Danimarca) come agenti gelificanti e inspessenti della fase acquosa. Come risultato della strutturazione della fase acquosa (aumento della quantità di farina) e dell'incremento della frazione di massa della fase dispersa, c'era un “inspessimento” del campione. Contemporaneamente, si osservava un aumento nella “strutturazione” della fase continua (estensione del network), tramite un abbassamento della curva che descriveva la tangente di sfasamento. L'ultima emulsione W/O studiata era prodotta semplicemente sostituendo la farina commerciale con una farina industriale trattata termicamente (con sale aggiunto). La farina trattata era capace di aumentare il valore del modulo complesso senza cambiare drasticamente l'angolo di fase. Le curve della $\tan(\delta)$ di entrambi i campioni erano, infatti, quasi simili: il decremento inaspettato della curva riferita all'Emu 6, a frequenze più alte, era dovuto al decremento del modulo

G'' , probabilmente attribuibile a fenomeni di slittamento. Il trattamento termico al quale la farina era stata sottoposta chiaramente influenzava la struttura dell'intero sistema, che appariva più consistente e che non mostrava alcun effetto ulteriore di gelatinizzazione. Il campione Emu 6 era l'emulsione W/O più consistente che era stata ottenuta. Un ulteriore incremento della fase acquosa, o una grande deformazione delle goccioline all'interno della fase continua avrebbe potuto probabilmente aumentare le proprietà meccaniche del sistema dando caratteristiche più simili a quelle della margarina commerciale. Nonostante ciò, sembrava molto difficile ottenere un notevole aumento della consistenza del campione senza un cambiamento fondamentale delle proprietà delle emulsioni. Questo suggerisce che le emulsioni W/O dovrebbero essere prodotte con una fase oleosa strutturata.

CAPITOLO II

Tra i possibili sistemi bifasici che possono essere prodotti con un elevato quantitativo di olio, le emulsioni alimentari strutturate sono tra quelle più attentamente studiate. Le emulsioni strutturate sono sistemi bifasici costituiti da un liquido disperso in un altro immiscibile; in quest'ultimo le goccioline interagiscono con un network, che gioca un ruolo cruciale nella stabilità dell'emulsione, nella reologia e nella microstruttura. Grazie alla possibilità di controllare le proprietà strutturali, diventa possibile la progettazione di emulsioni alimentari con una migliorata stabilità cinetica e/o con nuove proprietà funzionali. Una delle possibili applicazioni delle emulsioni alimentari strutturate è la produzione di sistemi a base di olio d'oliva come alimenti salubri, per esempio le emulsioni a base di olio d'oliva sostituite dei grassi usati per la produzione di pasta sfoglia. La pasta sfoglia è un impasto che viene spalmato con grassi duri e ripetutamente ripiegato e disteso; è composto quindi da strati alternati di impasto (farina di frumento e acqua) separati da strati alternati di grassi solidi, margarina, progettati per ottenere la corrispondenza reologica corretta. Il grasso da pasticceria (shortening) non viene miscelato alla farina o all'impasto, ma è posto sulla parte superiore dell'impasto, che viene ripiegato e disteso più volte fino a formare la sfoglia. Gli shortenings ad alto punto di fusione sono costituiti da acidi grassi idrogenati con proprietà meccaniche adatte ai processi di sheeting o di calandratura. Il grasso mantiene gli strati dell'impasto separati e sfaldati e l'umidità contribuisce al "puff" (rigonfiamento), poiché si trasforma in vapore durante il processo di cottura (Ghotra et al. 2002). Le margarine sono emulsioni strutturate W/O con un rapporto di fase dispersa inferiore al 20%. Se la quantità di fase acquosa supera questa soglia limite, le emulsioni W/O, chiamate "spread", non possono essere considerate margarine, ma possono essere commercializzate come grassi spalmabili (Borwankar, 1992). Il gusto delle margarine e dei cibi spalmabili è dovuto agli aromi solubili in acqua, a quelli solubili in olio e al sale in fase acquosa (Blanco Muñoz, 2004). Le caratteristiche reologiche sono date dal punto di fusione dei grassi saturi nella fase oleosa; cristalli interagiscono e formano una rete tridimensionale che circonda le goccioline di acqua, stabilizzando il sistema bifasico, dando a questi alimenti un carattere di gel forte. L'elevata consistenza della margarina viene ottenuta con un certo quantitativo di trigliceridi completamente saturi (i trigliceridi o i triacilgliceroli sono chiamati TAG), che consentono una migliore

interazione molecolare e, di conseguenza, un impaccamento migliore, dando una struttura più ordinata. Il processo tradizionale impiegato per saturare i TAG è generalmente l'idrogenazione, da cui si possono ottenere isomeri cis e trans (TFA). In generale, i grassi che contengono in prevalenza acidi grassi saturi (SFA) a temperatura ambiente sono solidi, mentre quelli contenenti prevalentemente acidi grassi insaturi (oli) a temperatura ambiente sono generalmente liquidi (Ghotra et al., 2002). Diversi dati indicano che i TFA non sono equivalenti metabolicamente agli isomeri cis naturali e che promuovono lo sviluppo di aterosclerosi, predisponendo a malattie coronariche e ad altri rischi non noti (Blanco Muñoz, 2004). Uno dei problemi più rilevanti per i progettisti alimentari è la sostituzione di cristalli TFA, con strutture diverse, che diano le stesse caratteristiche reologiche, ma che producano al tempo stesso cibi salutari (Norton, 2009). A differenza delle margarine, l'olio d'oliva è una miscela di diversi trigliceridi insaturi, soprattutto acido oleico (73% per i migliori oli di qualità), acido palmitico e acido linoleico (Azadmard-Damirchi, 2007). L'olio d'oliva e i prodotti a base di olio d'oliva vengono proposti come parte della dieta mediterranea, che attualmente contribuisce ad un sano regime alimentare. Essendo quindi, raccomandato nelle diete, l'olio d'oliva ha un'immagine positiva in termini di impatto sul consumatore (Blanco Muñoz, 2004). Per questo motivo, e per evitare danni alla salute dei consumatori, in molti alimenti i grassi idrogenati vengono sostituiti da prodotti salutari, ricchi di acidi grassi insaturi e caratterizzati da un basso punto di fusione, che, essendo liquidi a temperatura ambiente, non risultano adatti per un'applicazione diretta nei processi industriali tradizionali. A tal proposito sono state prodotte e caratterizzate emulsioni acqua-in-olio strutturando la fase acquosa con polisaccaridi e cercando di aumentare la consistenza finale per ottenere un prodotto simile (da un punto di vista reologico) alla margarina. Poiché l'emulsione W/O più consistente realizzata, pur presentando un buon grado di strutturazione, non aveva la consistenza desiderata, sono stati studiati altri possibili modi per produrre delle emulsioni di olio d'oliva con caratteristiche reologiche appropriate: emulsioni W/O con grassi cristallizzati e sistemi O/W invertiti, strutturando la fase acquosa con diversi tipi di polisaccaridi (Lupi, 2010).

2.1. Le margarine.

Le margarine usate nella produzione di pasta sfoglia devono la propria consistenza al network di cristalli grassi ottenuto con un certo quantitativo di trigliceridi completamente saturi (TAG). I TAG consentono un'interazione molecolare ed un impaccamento migliori

per dare una struttura più ordinata. Tradizionalmente la saturazione dei TAG è realizzata tramite l'idrogenazione da cui si ottengono gli isomeri cis a trans (TFA). In particolare i TFA aumentano il livello di plasma delle lipoproteine totali e a bassa densità (LDL), mentre decresce il livello di plasma delle lipoproteine ad alta densità (HDL). La loro presenza promuove lo sviluppo dell'aterosclerosi ed una predisposizione alle patologie coronariche e ad altri rischi ancora non noti (Blanco Muñoz, 2004). In generale, i grassi contenenti una grande quantità di acidi grassi saturi (SFA) sono solidi a temperatura ambiente, mentre quelli contenenti maggiormente acidi grassi insaturi (oli) sono solitamente liquidi a temperatura ambiente (Ghotra et al., 2002). L'olio d'oliva è un ingrediente tipico della dieta mediterranea ed è riconosciuto come un alimento salutare. Da un punto di vista reologico è un liquido newtoniano, per cui non può essere usato nel processo tradizionale di sheeting.

Margarine e sostituti delle margarine: stato dell'arte.

La margarina è uno dei grassi più utilizzati per i prodotti lievitati e da forno e per le paste sfoglie. La produzione della margarina segue diverse fasi produttive volte ad ottenere emulsioni W/O con un rapporto della fase dispersa minore del 20%_{w/w}. Le caratteristiche reologiche sono date dall'alto punto di fusione dei grassi saturi presenti nella fase oleosa, che sono organizzati in aggregati cristallini, che formano una struttura interagente ordinata. Per tale ragione, questi aggregati formano un network tridimensionale circondando e stabilizzando le gocce d'acqua, dando un carattere di gel duro a tali alimenti.

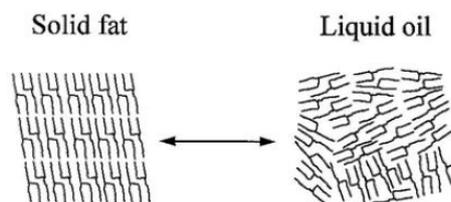


Figura 2.1.1: un paragone tra la struttura di grassi solidi (ordinata) e oli liquidi (disordinata).

In figura 2.1.2 è proposta l'immagine di una margarina commerciale: è ben visibile la struttura interna del sistema.

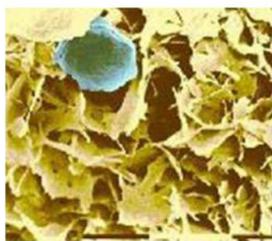


Figura 2.1.2: un network di grasso cristallino (giallo) e una goccia d'acqua (blu) in una margarina, osservata al crioscanner EM. L'involucro della goccia d'acqua ha una struttura cristallina. Gli spazi vuoti nella struttura indicano le aree in cui era presente inizialmente l'olio, prima che venisse rimosso durante la preparazione del campione per la microscopia elettronica.

Attualmente per l'indurimento della fase oleosa della margarina vengono utilizzati tre metodi: 1) l'idrogenazione parziale di oli vegetali; 2) catalitica di oli vegetali e di grassi completamente saturi; 3) l'aggiunta di materiali grassi solidi all'olio liquido iniziale. La tecnica più usata tra le precedenti è l'idrogenazione catalitica dei doppi legami delle catene degli acidi grassi insaturi. L'idrogenazione industriale di olio vegetale (o anche olio di pesce) è un processo che coinvolge tre fasi (gas-solido-liquido) (Singh et al., 2009). Il processo può implicare lo spostamento dei doppi legami nelle loro posizioni sulla catena di carbonio degli acidi grassi, producendo isomeri posizionali e geometrici, ossia gli acidi grassi di tipo trans (TFA) (Blanco Muñoz, 2004). Un altro metodo valido per l'indurimento della margarina consiste nell'aggiungere grassi duri nella fase liquida oleosa, con un emulsionante adeguato ed un agente stabilizzante. Jahaniaval (2005) nel suo brevetto suggerisce una metodica di preparazione di margarine salubri e sostituti del burro a base di oli liquidi (a temperatura ambiente) come l'olio di oliva e fosfolipidi come stabilizzatori. La consistenza finale della margarina risultante viene aumentata se si miscela ad alta temperatura l'olio e gli si aggiunge del grasso duro come: stearina di cotone, stearina di palma e di canola e trigliceridi a punto di fusione intermedio come i grassi intersterificati, burro di cacao o sostituti e qualsiasi grasso frazionato del burro di cacao con punto di fusione tra 34-40 °C. Altri Autori suggeriscono invece, l'utilizzo di un gliceride ad elevata frazione di digliceridi, come emulsionante (Skogerson et al., 2007). I mono e digliceridi degli acidi grassi sono emulsionanti lipofili (HLB pari a 3.7) ampiamente utilizzati nell'industria alimentare, che permettono la formazione di emulsioni W/O (Constantinides & Yiv, 1994; Friberg, 1997). Essi vengono prodotti dalla reazione del glicerolo con olio vegetale e grassi, la cui composizione dipende fortemente dalle caratteristiche del frutto di partenza da cui viene estratto l'olio (Clogston et al., 2000). Le molecole di mono e digliceridi degli acidi grassi sono caratterizzate da una testa idrofila, che attrae l'acqua, ed

una coda lipofila, che respinge l'acqua, ed esibiscono un comportamento specifico di aggregazione, che è determinato dalla loro geometria (figura 2.1.3). Per strutturare prodotti alimentari la strada più interessante è quella che coinvolge molecole di forma più o meno cilindrica (figura 2.1.3B). In tal caso, gli emulsionanti come i mono e digliceridi possono chiudere strati di acqua tra strutture a doppio strato, che danno vita alla cosiddetta fase lamellare (figura 2.1.3D) (<http://www.isaac-heertje.nl/structure/>).

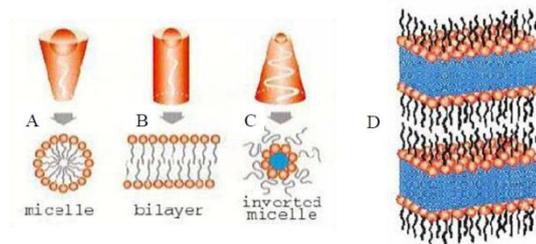


Figura 2.1.3: A-Gruppo di testa più largo della coda: in acqua si formano micelle; B-Molecole a forma di cilindro: formazione di doppio strato parallelo; C- Gruppo di testa più piccolo della coda: formazione di micelle invertite che racchiudono l'acqua; D- Schema di una fase lamellare.

L'interazione che intercorre tra l'emulsionante e i cristalli di grassi non è ben chiara; una probabile interpretazione è schematizzata in figura 2.1.4, in cui è riportato il meccanismo di stabilizzazione delle particelle di grasso legate alle molecole di emulsionante. Gli emulsionanti fungono da ponti molecolari, che consentono ai cristalli di grasso di essere legati alle gocce della fase dispersa (Garti et al., 1998). È chiaro che le particelle di grasso giocano un ruolo importante nel meccanismo di stabilizzazione di Pickering.

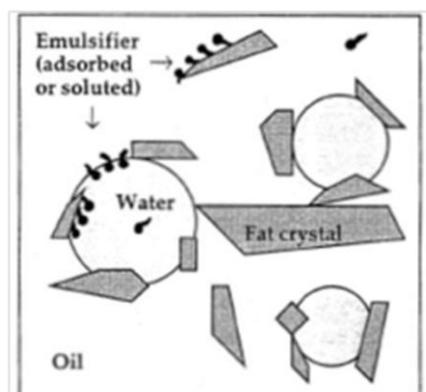


Figura 2.1.4: Schema della struttura della margarina: interazione tra gocce d'acqua, cristalli di grassi ed emulsionanti.

Il gusto delle margarine e degli alimenti spalmabili è dovuto agli aromi solubili in acqua, agli aromi solubili in olio e al sale nella fase acquosa (Blanco Muñoz, 2004). Le caratteristiche reologiche sono date dal punto di fusione dei grassi saturi nella fase oleosa; i cristalli interagiscono e formano una rete tridimensionale che circonda le goccioline di acqua e che stabilizza il sistema bifasico, dando un carattere di tipo gel rigido a questi alimenti. L'elevata consistenza della margarina viene ottenuta con un certo quantitativo di trigliceridi completamente saturi (triacilgliceroli o TAG), che permettono una migliore interazione molecolare e, di conseguenza, un migliore impaccamento (figura 2.1.5) dando una struttura più ordinata.

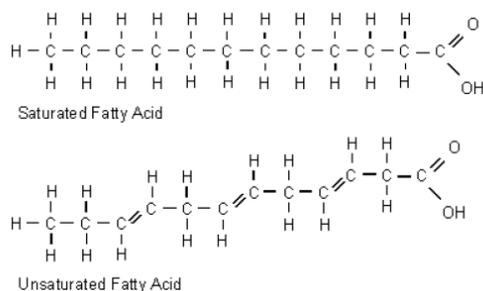


Figura 2.1.5: Struttura chimica di acidi grassi: gli acidi grassi insaturi hanno almeno un doppio legame.

Come già detto in precedenza, l'olio d'oliva e i prodotti a base di olio d'oliva sono riconosciuti in tutto il mondo come cibi salutari e sono promossi come parte della dieta mediterranea, che contribuisce in maniera favorevole alla dieta. Per tale ragione l'olio d'oliva può essere raccomandato nella dieta ed ha un'immagine positiva in termini di richiesta del consumatore. Anche se nel mercato estero il prodotto "margarina con olio d'oliva" esiste già, la percentuale massima di olio contenuto in queste ricette originali è del 21%_{w/w}. Nella tabella 2.1 sono riportati diverse marche di shortening contenenti olio d'oliva; il quantitativo totale è riportato su base peso.

Marca	Prodotto in	Nome	% di olio di oliva
Biona	U.S.A.	Organic Olive Extra Spread	12.7
Migros	Svizzera	Margarine Sanissa Olive	15
Kaiku-Benecol	Spagna	Margarina con Aceite de Oliva	15
Flora (Unilever)	Spagna	Margarina Oliva	20
Bertolli	Italia	Spread Olive Oil	21

Tabella 2.1: Alcune marche di shortening contenenti olio d'oliva.

L'olio d'oliva è una miscela di TAG di diversi acidi grassi, principalmente acido oleico (circa il 73%_{w/w} per l'olio extra vergine d'oliva), acido palmitico e linoleico (<http://www.oliveoilsource.com>). La composizione esatta, ovviamente, dipende dal grado di maturazione e dal tipo di coltura. Ma considerando una composizione media, il tipo di acidi grassi saturi (acido palmitico e stearico), che contribuiscono all'elevato punto di fusione, è relativamente piccolo (meno del 20%), mentre gli acidi insaturi predominano significativamente; in tabella 2.2 è riportata la composizione media di TAG di un olio d'oliva standard, mentre in tabella 2.3 la composizione di un olio d'oliva è espressa in termini di acidi grassi (Cappelli e Vannucchi, 2000; Azadmard-Damirchi, 2007).

Trigliceride	Quantità [% _{w/w}]	Nome
OOO	40-59	1,2,3-trioleilglicerolo
POO	12-20	2,3-dioleil-1-palmitoilglicerolo
OOL	12.5-20	1,2-dioleoil-3-linoleilglicerolo
POL	5.5-7	2-oleil-3-linoleil-1-palmitoilglicerolo
SOO	3-7	2,3-dioleil-1-stearoilglicerolo

Tabella 2.2: Composizione media di TAG dell'olio d'oliva, altri TAG possono essere presenti in tracce.

Acido	Quantità [% _{w/w}]	Tipologia
Oleico	>65	Monoinsaturi
Palmitico	<17	Saturi
Linoleico	<13.5	Polinsaturi
Stearico	<3.5	Saturi
Linolenico	<1.5	Polinsaturi
Palmitoleico	0.3 – 3	Monoinsaturi

Tabella 2.3: alcuni dei più importanti acidi grassi dell'olio d'oliva.

I trigliceridi più comuni, usati per aumentare la consistenza della fase oleosa nelle emulsioni W/O durante la produzione di shortening, sono la sterina di palma o tristearina completamente satura (Garti et al., 1998; Johansson et al., 1995; Ramli et al., 2008). Nel 2005 Jahaniaval propose l'aggiunta di burro di cacao o di equivalenti del burro di cacao per la produzione di margarine o shortening.

Emulsioni W/O con burro di cacao

Il burro di cacao, detto anche “olio teobroma”, è un grasso vegetale, puro, edibile, di un giallo pallido, estratto dai semi di cacao (che contengono circa il 50-60%w/w di burro) (Salas et al. 2011). Il burro di cacao è composto principalmente da una miscela di 40-50 triacilgliceroli (TAG), di cui tre dominanti: palmitico, oleico e stearico. Questi tre TAG regolano anche la cristallizzazione e le trasformazioni di fase. Il burro di cacao cristallizza in diverse forme in funzione delle condizioni di processo, del tempo e della temperatura di conservazione. La complessità e la flessibilità dei trigliceridi porta a differenti impaccamenti, dando luogo all’esistenza di più polimorfi (Narine et al., 1999). I dati, presenti in letteratura, riguardanti le sei forme polimorfiche dei cristalli di burro di cacao non hanno una nomenclatura uniforme. Sono stati distinti come polimorfi I-VI da Fessas et al. o α , β (distinti in β_1 e β_2), β' (distinti anche in β_1' e β_2') e γ . Nel 2004 Schenk e Peschar unificarono le diverse forme cristalline chiamandole γ , α , β' , $\beta(V)$ e $\beta(VI)$. Le forme instabili I (che fondono a 16-18°C) e II (22-24°C) si trasformano lentamente in III (24-26°C) e IV (26-28°C), tutte hanno polimorfi meno stabili, ma tramite l’ottimizzazione del tempering si portano alla forma polimorfica stabile V (che fonde a 32-34°C) (Afoakwa et al., 2009). Le diverse forme cristalline con i punti di fusione sono riportate in tabella 2.4.

Cristalli	Punto di fusione [°C]
β_1 (VI)	34-36
β_2 (V)	32-34
β_1' (IV)	26-28
β_2' (III)	24-26
α (II)	22-24
γ (I)	16-18

Tabella 2.4: differenti polimorfi del burro di cacao e i loro punti di fusione.

In figura 2.1.6 è presentato uno schema completo della transizione di fase isoterma del burro di cacao, in condizioni statiche dal punto di vista meccanico, in cui sono riportate le fasi cristalline in funzione del tempo a temperatura costante (Schenk e Peschar, 2005).

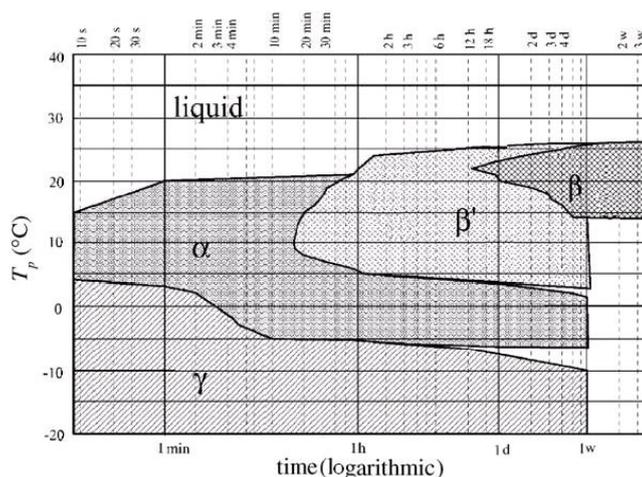


Figura 2.1.6: schema qualitativo della transizione di fase isoterma del burro di cacao statico.

Nel caso della margarina, la fase oleosa dovrebbe cristallizzare nella forma β' , che dà una sensazione di morbidezza al palato, conferisce durezza alla margarina finale e intrappola una grossa quantità di olio liquido grazie alla sua natura sferulitica (Wiederman, 1978; Schenk e Peschar, 2004; Borwankar et al., 1992).

Garti et al. (1998) affermarono che la forma α dei cristalli di grasso idrogenato può essere ottenuta tramite un processo di raffreddamento rapido della fase oleosa e che, in presenza di emulsionanti alimentari, le emulsioni W/O (come le margarine) possono essere stabilizzate da cristalli di forma α (miscelati con la forma β'). Hindle et al. (2000) hanno studiato la cristallizzazione del burro di cacao nella forma α , mentre Coupland (2002) ha studiato l'olio di palma e le emulsioni grasse con cristalli di tipo β . Il burro di cacao è composto da una grande quantità di acidi grassi saturi TAG, soprattutto ha un alto contenuto di acido stearico e palmitico, contrariamente a quanto si trova per l'olio di oliva; ciò giustifica la diversità strutturale dei due grassi a temperatura ambiente e anche la scelta di ispessire la fase oleosa con il burro di cacao, visto che contiene alcuni dei trigliceridi già presenti nell'olio di oliva. Lipp et al. (2001) hanno studiato la composizione media di diversi burri di cacao, la cui composizione è riportata nella tabella 2.5.

Trigliceride	Quantità [w/w%]	Nome
POP	18.27	1,3-dipalmitoil-2-oleilglicerolo
PLP	1.82	2-linoleil-1,3-palmitoilglicerolo
POS	42.07	2-oleil-3-stearoil-1-palmitoilglicerolo
POO + PLS	5.58	2,3-dioleil-1-palmitoilglicerolo 2-linoleil-3-stearoil-1-palmitoilglicerolo
SOS	26.39	1,3-distearoil-2-oleilglicerolo
SOO + SLS	4.64	2,3-dioleil-1-stearoilglicerolo 1,3-distearoil-2-linoleilglicerolo
OOO	1.23	1,2,3-trioleilglicerolo

Tabella 2.5: composizione media dei TAG del burro di cacao.

In altri lavori Lipp e Anklam (1997) hanno analizzato la composizione media, in termini di acidi grassi, di burri di cacao provenienti da diversi paesi, scegliendo tra i più importanti produttori di questo materiale (tabella 2.6).

Acid	Ecuador	Brazil	Ghana	Ivory coast	Malaysia	Java	Average
Acido Palmitico	25.6	25.1	25.3	25.8	24.9	24.1	25.13
Acido Stearico	36.0	33.3	37.6	36.9	37.4	37.3	36.42
Acido Oleico	34.6	36.5	32.7	32.9	33.5	34.3	34.08
Acido Linoleico	2.6	3.5	2.8	2.8	2.6	2.7	2.83
Acido Linolenico	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.18
Acido Arachico	1.0	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.17
Acido Beenico	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.18

Tabella 2.6: composizione media (%_{w/w}) in termini di acidi grassi del burro di cacao proveniente da diversi paesi.

Il processo di produzione della margarina segue una sequenza di fasi: il primo è l'idrogenazione catalitica di oli vegetali, che può durare molti giorni. Segue la fase di preparazione dell'emulsione, che avviene a 100°F (circa 38°C) e l'emulsione ottenuta è mandata al "Votator", dove viene raffreddata usando NH₃ al punto di ebollizione. In un paio di minuti la miscela raggiunge 45-50°F (7-10°C). Il materiale ottenuto è poi pompata in un secondo contenitore, dove continua a cristallizzare e di tanto in tanto è agitato, anche se in generale è lasciato riposare fino a formare uno stato semisolido (Wiederman, 1978). È importante notare che una velocità di raffreddamento lenta può portare, in uno stato di quiescenza, direttamente al polimorfo β', ma velocità di raffreddamento lente e basse temperature di annealing portano ad un network più disordinato, dando un prodotto finale con un basso modulo elastico (Fessas et al., 2005). È chiaro che il processo di raffreddamento è diviso in una prima fase di raffreddamento rapido per ottenere un numero elevato di piccoli cristalli α e un secondo step più lento per convertire questi cristalli nei cristalli β' più stabili e utili. Come già menzionato, Lupi nel 2010 ha studiato delle emulsioni a base di olio d'oliva, che avessero caratteristiche reologiche appropriate per la produzione di pasta sfoglia. Inizialmente erano state studiate emulsioni gelificate e, per ottenere un incremento della consistenza del sistema, la fase interna (acquosa) era stata strutturata con farina. Poiché la strutturazione della fase interna non risultava essere adeguata a dare le proprietà meccaniche desiderate per un grasso solido commerciale, si era provveduto a produrre emulsioni W/O strutturando la fase oleosa, aggiungendo all'olio d'oliva burro di cacao e mono e digliceridi degli acidi grassi.

Caratterizzazione reologica di margarine commerciali

Per meglio definire un intervallo delle caratteristiche reologiche necessarie per garantire il processo di sheeting, l'autore (Lupi, 2010) ha proposto la caratterizzazione di due grassi commerciali, in termini di modulo complesso G^* contro la frequenza alla temperatura di 20°C. Entrambi i campioni analizzati presentavano un tipico comportamento di tipo solido, ossia il modulo elastico G' sempre maggiore del modulo viscoso G'' di almeno un ordine di grandezza in un diagramma log-log dei moduli dinamici versus la frequenza applicata. Inoltre si poteva riscontrare un andamento piuttosto lineare dei moduli nell'intervallo delle frequenze investigato. In accordo con il modello del weak gel (Gabriele et al., 2001), i dati di entrambi i campioni sono stati rappresentati da una legge di potenza a due parametri:

$$G^*(T) = \sqrt{G'(T)^2 + G''(T)^2} = A(T) \cdot \omega^{1/z(T)} \quad [2.1]$$

i due campioni mostravano una forza diversa, A , ma più o meno la stessa estensione del network, z , indicando un possibile intervallo in cui dovrebbero ricadere le proprietà desiderate di un grasso da utilizzare in un processo di sheeting.

2.2. Gli organogelatori

Un organogel può essere definito come un liquido organico intrappolato in un network tridimensionale gelificato e termo-reversibile. Questo network si forma tramite l'autoassemblaggio di molecole organogelatrici ad una concentrazione relativamente bassa, che sono molto spesso composti a basso peso molecolare, capaci di gelificare solventi organici (Hughes et al., 2009).

E' stato ampiamente dimostrato che l'eccessivo consumo di grassi trans e saturi ha effetti deleteri sulla salute, compresi degli effetti negativi sui profili delle lipoproteine (colesterolo), e aumenti nell'incidenza di malattie cardiache e sindromi metaboliche. E' stato stimato che già a partire dal 2010, più di 230 milioni di persone soffriranno di una sindrome metabolica associata ad aumentato rischio di sviluppare il diabete mellito di tipo 2, disturbi cardiovascolari, portando in entrambi i casi a morte prematura. Dal primo luglio del 2006 negli Stati Uniti d'America è diventato obbligatorio indicare sull'etichetta la presenza dei grassi trans, come richiesto dal Food and Drug Administration (FDA), inducendo il produttore alimentare a ripensare sull'opportunità di usare questi grassi

insalubri e a sostituirli. Le proprietà meccaniche, la funzionalità e la consistenza dei cibi strutturati con i grassi, come la cioccolata, i gelati, gli spreads e gli shortening sono date da un network colloidale sottostante di cristalli di grassi polimorfi, che intrappolano l'olio liquido dentro questo network. Questi cristalli grassi sono composti da acidi grassi saturi ad alto punto di fusione o da acidi grassi di tipo trans mentre l'olio liquido è composto principalmente da acidi grassi mono e polinsaturi. Senza tale network di cristalli grassi, composto da grassi saturi o trans, questi prodotti non esisterebbero. Fino ad oggi, per strutturare un olio liquido e renderlo un grasso spalmabile non c'erano altri mezzi che aggiungere una quantità relativamente grande di questi grassi saturi o trans. Nel 2009 Rogers e collaboratori hanno riportato una strategia non convenzionale per strutturare gli oli liquidi in oli solid-like, che possono essere poi utilizzati come margarine, shortenings e spreads. Questo tipo di strutturazione richiede l'uso di molecole tipo surfattanti con solubilità limitata che si auto-assemblino in fibrille o piastrine e formino un network che induca l'olio a formare un gel trans lucente. Per evitare confusione dovuta a ciò che costituisce un organogel, è stata proposta la seguente definizione: gli organogel sono materiali auto-sufficienti, termo-reversibili, anidri, viscoelastici, che sono strutturati da un network sopramolecolare tridimensionale di piccole molecole auto-assemblate in un liquido organico a concentrazioni non più grandi della loro soglia di percolazione, solitamente $\leq 2\%_{w/w}$. Le molecole tipo surfattanti possono includere una varietà di composti: acidi grassi idrossilati, acidi grassi, alcoli grassi, miscele di acidi grassi e alcoli grassi, miscele di fitosterolo-orizanolo, sorbitano monostearato, cere, e miscele di lecitina-sorbitano tristearato. È importante ricordare che non è permesso aggiungere agli alimenti acidi grassi idrossilati, acidi grassi a catena lunga e alcoli grassi, mentre gli oli gelificati con sorbitano monostearato e con miscele di lecitina-sorbitano tristearato non sono permessi solo a concentrazioni molto elevate o in presenza di acqua. L'aggiunta di cere negli alimenti non è attualmente permessa, e i fitosteroli formano un network fibroso molto differente dai network colloidali dei cristalli grassi. Tuttavia, l'ostacolo maggiore nell'adottare queste tecnologie finora è stata la mancanza di organogelatori che fossero utilizzabili nell'industria alimentare, che avessero un riscontro positivo sulla salute e che potessero creare un network simile a quello dei network colloidali dei cristalli grassi. (Rogers et al., 2009). Più di recente in letteratura sono stati riportati diversi studi riguardanti numerosi gelatori come: triacilgliceroli (TAG), diacilgliceroli (DAG), monoacilgliceroli (MAG), acidi grassi e alcoli grassi, sorbitano tri-stearato e/o lecitina,

steroli e γ -orizanoli, cere e altri. Tra essi, i monogliceridi sono particolarmente interessanti a fini alimentari in quanto, oltre alla capacità di gelificare, hanno effetti benefici sulla salute (Goldstein e Seetharaman, 2011). Da Pieve et al. (2010) usarono monogliceridi per analizzare la strutturazione di olio di fegato di merluzzo sotto l'effetto dello shear. Gel di monogliceridi sono stati usati da Goldstein e Seetharaman (2011) per realizzare emulsioni O/W che sostituissero gli shortenings nei biscotti trovando che le emulsioni strutturate aumentavano la fermezza e la vita di scaffale rispetto ai componenti non strutturati. Ojijo et al. (2004) studiarono un sistema olio d'oliva/monogliceride, usando dei Dynamic e degli Steady Shear Temperature Ramp Test con differenti velocità di raffreddamento. Essi trovarono che era necessaria una frazione volumetrica minima di monogliceride dello 0.025 per apprezzare un aumento del modulo di accumulo (G') che indica l'inizio della gelificazione. È stato trovato inoltre un aumento della temperatura di inizio cristallizzazione con l'aumento del contenuto di monogliceride. Sempre nel 2010 Toro-Vazquez e collaboratori hanno studiato l'organogelazione usando oli vegetali, come fase liquida, e hanno riscontrato che l'organogelazione rappresenta una promettente alternativa per modificare le proprietà fisiche di oli vegetali senza l'uso di processi chimici, che invece portano alla formazione di acidi grassi di tipo trans.

Il processo di organogelazione è abbastanza simile alla gelificazione dei sistemi acquosi (idrogel), che è data dall'azione di molecole solubili in acqua (come i polisaccaridi o le proteine), e solitamente coinvolge interazioni deboli (ponti di idrogeno, forze di van der Waals, etc) tra le singole unità (Kim, et al., 2010). Le proprietà degli organogel sono interessanti per diverse applicazioni: farmaceutiche e cosmetiche, della conservazione artistica e, nell'ambito alimentare, per controllare il rilascio di componenti volatili degli aromi, per promuovere la formazione di aromi durante i trattamenti termici e come fase strutturante nei prodotti a basso contenuto di grasso (Calligaris et al., 2010). Quest'ultima applicazione è tra le più interessanti in quanto si occupa delle modifiche reologiche di shortenings (grassi) a base di oli vegetali e della stabilizzazione di emulsioni alimentari, tecniche promettenti per sostituire i grassi saturi e di tipo trans con gli organogel, come agenti che danno maggiore texture nei sistemi alimentari (Duffy et al., 2009; Lupi et al., 2011).

CAPITOLO III

La crescente domanda di alimenti sani richiesti dai consumatori sta orientando la ricerca a sostituire gli additivi pericolosi e insalubri con i migliori ingredienti naturali conosciuti. Dalla letteratura recente si può comprendere chiaramente l'importanza di progettare alimenti di uso quotidiano, sani, senza grassi di tipo trans. Molti lavori interessanti sono stati pubblicati a riguardo: un esempio è la conferenza plenaria di Norton et al. nel 2009. Il problema di sostituire gli acidi grassi trans nella margarina (emulsioni W/O) è trattato dalla ricerca in diversi modi. Per la grande varietà di approcci metodologici e concettuali, i risultati in letteratura sono diversificati, è per questo motivo che nel mio lavoro di dottorato ho rivolto l'attenzione principalmente alla valutazione dell'effetto dell'aggiunta di grassi duri e di emulsionanti sulla cristallizzazione e sulla strutturazione delle emulsioni.

In particolare, nella prima parte del mio lavoro di dottorato è stata caratterizzata microscopicamente e reologicamente la fase oleosa, strutturata, con una fonte naturale di grassi liberi da acidi grassi di tipo trans. Tenendo conto dei materiali utilizzati per la produzione delle emulsioni, è ovvio che utilizzare una maggiore quantità relativa di fase oleosa nei sistemi bifasici è molto più interessante, dal punto di vista economico, rispetto ai sistemi acquosi diluiti, proprio per l'elevato valore aggiunto della fase oleosa. Successivamente sono state preparate due differenti emulsioni, a diverso contenuto di burro di cacao ed il loro comportamento reologico è stato confrontato con quello di un grasso alimentare esistente sul mercato, al fine di verificare una potenziale applicazione come sostitutivo salutare dei grassi alimentari.

Come già detto in precedenza, la margarina è uno dei grassi più utilizzati nella produzione di prodotti da forno e da lievito e nella produzione della pasta sfoglia. Il suo processo produttivo passa attraverso diverse fasi per ottenere emulsioni W/O con una percentuale della fase dispersa inferiore al 20%_{w/w}. Nella produzione della margarina le fasi del processo comprendono la preparazione separata di una fase oleosa, opportunamente idrogenata in cui si aggiungono emulsionanti e stabilizzanti, e di una fase acquosa, a cui vengono aggiunti anche emulsionanti e stabilizzanti. Segue una prima fase di raffreddamento rapido in uno scambiatore di calore a superficie raschiata per consentire la cristallizzazione dei grassi e, prima del molding, il mantenimento in tubi di cristallizzazione per garantire l'incremento di consistenza del campione (Ghotra et al.,

2002; <http://www.madehow.com/Volume-2/Butter-and-Margarine.html>). Il passaggio più interessante è il processo di cristallizzazione, che è anche il momento più delicato.

La consistenza ed il punto di fusione della margarina sono determinati principalmente dalla percentuale e dal grado di saturazione dei grassi; infatti i grassi saturi contribuiscono di più alla cristallizzazione, rendendo il prodotto più solido (Ghotra et al., 2002). Ciò è dovuto alla loro configurazione spaziale che permette una disposizione ordinata, che facilita le interazioni molecolari (ponti di idrogeno) e che permette di ottenere un elevato punto di fusione (http://www.cibo360.it/alimentazione/chimica/macronutrienti/lipidi/acidi_grassi.htm). La consistenza finale ottenuta per le margarine industriali dipende tra l'altro dal tipo di olio utilizzato e dal contenuto di acido palmitico: i grassi di tipo β' , desiderati per il loro effetto sulla consistenza, contengono un'elevata quantità di acido palmitico (Wiederman, 1978). È importante notare che una velocità di raffreddamento lenta può portare, in uno stato di riposo, direttamente al polimorfo β' , ma velocità di raffreddamento lente e basse temperature di indurimento fanno ottenere un network più disordinato, che dà un prodotto finale con un modulo di elasticità basso (Fessas et al., 2005). Pertanto, è evidente che il processo di raffreddamento si divide in una prima fase di raffreddamento rapido per ottenere un gran numero di cristalli piccoli di tipo α e una seconda fase più lenta per convertire questi cristalli in cristalli di tipo β' più stabili e utili.

Per produrre un grasso dietetico strutturato, che sia anche salubre, l'ingrediente principale potrebbe essere l'olio d'oliva, che, essendo costituito da una miscela di trigliceridi di diversi acidi grassi (principalmente acido oleico, palmitico e linoleico), può essere raccomandato nelle diete ed ha un'immagine positiva in termini di impatto sul consumatore.

Il passaggio più delicato della produzione di grassi alimentari è sicuramente il processo di cristallizzazione, per tale ragione, al fine di studiare l'influenza della cristallizzazione sulla reologia dell'emulsione, è stata esaminata la fase oleosa realizzando una caratterizzazione reologica e microstrutturale.

Alla luce di quanto esposto, l'obiettivo iniziale di questo lavoro di dottorato era quello di caratterizzare le emulsioni W/O con una fase oleosa strutturata, avente una concentrazione elevata ($\geq 65\%$) di olio di oliva.

La prima fase sperimentale del mio dottorato di ricerca è stata svolta presso il laboratorio del Departamento de Ingeniería Química, Química Física y Química Orgánica, Campus de "El Carmen", Universidad de Huelva (Spagna). Con lo scopo di valutare l'effetto

dell'aggiunta di grassi duri e di emulsionanti sulla cristallizzazione e sulla strutturazione delle emulsioni, è stata condotta una caratterizzazione reologica sulla sola fase oleosa non emulsionata. Durante l'ultimo periodo di permanenza all'estero sono state preparate due differenti emulsioni, a diverso contenuto di burro di cacao ed il comportamento reologico di tali emulsioni è stato confrontato con quello di un grasso alimentare commerciale.

3.1. Caratterizzazione reologica.

La caratterizzazione reologica di un materiale si deve basare sulle proprietà che non dipendono dalla storia di deformazione: questo può essere ottenuto applicando una cinematica asintotica, in cui la risposta a una sollecitazione non è influenzata dalla storia di deformazione (Ferry, 1980). Tra i possibili approcci, quello che consente di determinare sia il comportamento solido, che liquido di un materiale è l'approccio viscoelastico. Con il fine di ottenere questa informazione, uno strumento molto importante sono le misure di oscillazione di piccola ampiezza. La necessità di operare in condizioni di piccole deformazioni deriva dall'esigenza di garantire una risposta del sistema con la sola armonica principale, e trascurare così la presenza di eventuali armoniche di ordine superiore. In tal modo la risposta risulta effettivamente indipendente dalla storia di deformazione ed è una caratteristica del materiale.

Le funzioni più comunemente usate per descrivere il comportamento viscoelastico di un materiale sono: il modulo elastico o di accumulo, G' , che esprime l'energia accumulata nel materiale per ogni ciclo di deformazione ed è legato al comportamento solido; il modulo viscoso o dissipativo, G'' , che misura l'energia persa per dissipazione viscosa in ogni ciclo ed è legato al comportamento liquido; e la tangente dello sfasamento, $\tan\delta = G''/G'$, che è la misura di quanto pesi il comportamento liquido rispetto a quello solido

Trattamento dei dati.

La fase oleosa strutturata può essere considerata come un network tridimensionale, formato dalle molecole dell'organogelatore e i cristalli dei grassi. Le caratteristiche meccaniche di questo network sono determinate dal considerare il numero delle unità di interazione all'interno della struttura e la forza tra le connessioni. A ciascuna temperatura, se il modulo complesso G^* è considerato come una combinazione del modulo elastico G' e di quello viscoso G'' , i dati possono essere rappresentati da una legge di potenza a due parametri:

$G^*(T, \omega) = \sqrt{(G')^2 + (G'')^2} = A(T) \cdot \omega^{1/z(T)}$. In accordo con il modello del weak gel (Gabriele et al., 2001), il parametro z è legato al numero di interazioni delle unità reologiche nel network tridimensionale, mentre il parametro A indica la forza di queste interazioni. Quando A aumenta le forze di interazione nel network stanno crescendo, mentre un valore alto di z indica un gran numero di unità di interazione che cooperano e aumentano la connettività del network.

3.2. Metodo di emulsione.

Tra i diversi dispositivi di miscelazione, il più utilizzato in letteratura è il sistema rotore-statore (Ultra-Turrax, IKA, Germania, figura 3.2.1) che, per mezzo dell'elevata velocità di rotazione del rotore, distrugge le goccioline

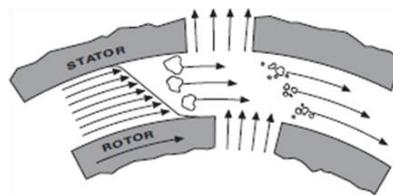


Figura 3.2.1 Schema di un sistema rotore-statore.

Il mezzo che viene processato, passa assialmente nella testa di dispersione e quindi è costretto a passare radialmente attraverso le fessure nel dispositivo rotore/statore. Le accelerazioni che agiscono sul materiale generano velocità di taglio molto elevate e forze di spinta per cui si crea un'elevata turbolenza nello spazio di taglio tra il rotore e lo statore, che fornisce un'ottima miscelazione dell'emulsione.

Stabilità dell'emulsione.

Il termine “stabilità dell'emulsione” è ampiamente utilizzato per descrivere la capacità di un'emulsione di mantenere le sue proprietà nel tempo. La stabilità deve essere garantita da un ampio numero di applicazioni: nell'industria alimentare, un'emulsione deve mantenere aroma, consistenza e caratteristiche reologiche per un certo periodo di tempo (vita di scaffale) (Robins, 2000; Mandala et al., 2004; Ambrosone et al., 2007), anche nel caso di prodotti farmaceutici (Masmoudi et al., 2006) e cosmetici (Förster e Herrington, 1998) si richiede stabilità a lungo termine (anni)

3.3. Calorimetria a scansione differenziale: DSC.

La ricerca scientifica nel campo della misurazione calorimetrica è iniziata più di duecento anni fa; infatti già nel 1780 Lavoisier e Laplace hanno ottenuto i primi risultati mediante un calorimetro di ghiaccio. Successivamente, Bunsen (1870) e Bronsted (1906) hanno lavorato per migliorare i metodi di analisi basati sulle misure calorimetriche; ma solo negli ultimi 25 anni questo settore ha avuto un forte sviluppo e oggi ci sono diversi tipi di strumenti di analisi basati su metodi di misurazione del calore.

La tecnica DSC è un metodo di ricerca particolarmente utile per determinare i parametri termodinamici e cinetici delle transizioni strutturali o delle reazioni chimiche. In particolare, questo metodo può essere utile per ottenere informazioni adeguate sulle transizioni strutturali dei materiali, accompagnati da effetti energetici. I grafici ottenuti possono essere utilizzati per determinare: la capacità di calore specifico, la temperatura di fusione (T_m), la temperatura di cristallizzazione (T_c), e l'entalpia associata, la temperatura di transizione vetrosa (T_g), la percentuale di cristallinità, la cinetica di reazione, la purezza del materiale, il grado e la velocità di essiccazione di un materiale, la stabilità all'ossidazione e decomposizione, ed infine per individuare materiali sconosciuti (Hatakeyama e Quinn, 1999). La tecnica del DSC si basa sulla misura della differenza di flusso di calore tra un campione e un riferimento inerte quando sono esposti ad un ciclo termico prestabilito; misura la quantità di calore assorbito o rilasciato dal campione durante una transizione di fase. Il principio di base di questa tecnica è che quando il campione è sottoposto a qualche trattamento, il campione deve ricevere (o dare) calore dal (al) riferimento in modo che entrambi possano essere mantenuti alla stessa temperatura.

Nel DSC a flusso di calore (figura 3.3.1), il campione e riferimento ricevono calore dalla stessa resistenza e la differenza di temperatura misurata deve essere convertita in flusso termico differenziale. In tali strumenti si pongono, all'interno della camera di misurazione in una piastra ad alta conducibilità termica nota, un contenitore del campione ed uno vuoto di riferimento, determinando così il flusso di calore dalla parete ai contenitori (Hatakeyama e Quinn, 1999). Si crea quindi una differenza di temperatura ΔT tra i due contenitori a causa della diversa capacità e conducibilità termica del campione e del riferimento.

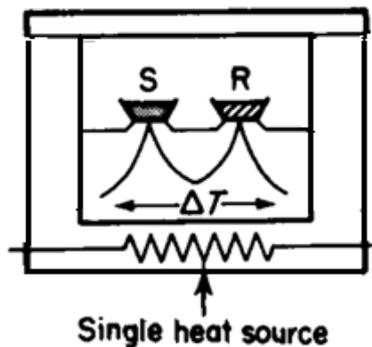


Figura 3.3.1: Schema di un DSC a flusso di calore

3.4. Materiali e metodi.

Preparazione della fase grassa cristallina

Partendo dalla formulazione utilizzata in precedenti lavori svolti presso il Laboratorio di Reologia ed Ingegneria Alimentare del Dipartimento di Modellistica per l'Ingegneria dell'Università della Calabria, è stata preparata una fase grassa cristallina, denominata OBM, utilizzando 73.9%_{w/w} di un olio di oliva vergine commerciale (Carbonell, Spagna), come inspessente 22.7%_{w/w} di burro di cacao (Icam S.P.A., Italia) (Jahaniaval, 2005) e come emulsionante 3.4%_{w/w} di mono e digliceridi degli acidi grassi (Myverol 18 04, Kerry Group, Irlanda) (Clogston et al., 2000). Dopo aver pesato gli ingredienti mediante una bilancia di precisione, l'olio è stato riscaldato su una piastra magnetica (Agimatic E, Selecta, Spagna) fino a 70°C, poi sono stati aggiunti contemporaneamente (Garti et al., 1998) il burro di cacao e l'emulsionante, fino a completa fusione degli stessi, continuando ad agitare per altri 5 minuti.

In generale, la preparazione di un grasso alimentare prevede: una prima fase di raffreddamento rapido (in un Votator), per consentire la cristallizzazione dei grassi, e poi il mantenimento a basse temperature (in tubi di cristallizzazione), per garantire l'incremento di consistenza del campione e la standardizzazione del prodotto finale. Per riprodurre le condizioni del Votator e ottenere un raffreddamento repentino, è stato utilizzato un bagno termico di acqua e ghiaccio a 1°C. La fase grassa ottenuta in precedenza è stata versata in un contenitore di alluminio di 20 cm di diametro, posto nel bagno, e raffreddata fino a 15°C, rimstando lentamente. Per garantire lo sviluppo del network cristallino, che avviene

nei tubi di cristallizzazione, la fase grassa è stata conservata a 4°C. Dopo 1 giorno, 7 giorni e 21 giorni di conservazione del campione, la fase grassa cristallina è stata portata a 20°C e si è proceduto alla caratterizzazione reologica.

Preparazione delle emulsioni

In base alla metodica utilizzata in lavori precedenti (Lupi, 2010), sono state preparate due emulsioni, chiamate: Emu10 (75%_{w/w} di un olio vergine di oliva commerciale, 10%_{w/w} di burro di cacao, 3%_{w/w} di mono e digliceridi degli acidi grassi e 12%_{w/w} di fase acquosa) ed Emu20 (65%_{w/w} di un olio vergine d'oliva commerciale, 20%_{w/w} di burro di cacao, 3%_{w/w} di mono e digliceridi degli acidi grassi e 12%_{w/w} di fase acquosa).

La fase acquosa è stata ottenuta sciogliendo la giusta quantità di NaCl in acqua a temperatura ambiente per un tempo di miscelazione di 5 minuti. La fase oleosa è stata prodotta applicando una velocità di raffreddamento rapida, agitando dolcemente la fase oleosa. Quest'ultima è stata raffreddata in un bagno termostatico freddo (1°C) fino alla temperatura finale di 15°C. La fase oleosa è stata versata in un contenitore di alluminio rotondo di dimensioni pari a $\phi = 20$ cm, in cui lo spessore finale della fase grassa fredda raggiungeva un valore massimo di circa 1 cm. La fase di emulsione è stata eseguita utilizzando un sistema rotore-statore (Ultra-Turrax T50, IKA, Germania) a 7600rpm. I campioni Emu10 ed Emu 20 sono stati preparati con una quantità totale di burro di cacao rispettivamente pari al 10%_{w/w} e al 20%_{w/w}, seguendo, per la preparazione della fase oleosa, la medesima procedura utilizzata per il campione OBM (fase oleosa dell'emulsione Emu20). Per garantire lo sviluppo del reticolo cristallino, le emulsioni sono state conservate a 4°C per 24 ore. Prima di effettuare la caratterizzazione reologica, la temperatura delle emulsioni è stata aumentata fino a 20°C. Per preparare l'Emu20 è stato emulsionato il 12%_{w/w} di una fase acquosa (0.1M di NaCl, al fine di identificare la mutua posizione delle due fasi, tramite conduttività elettrica) con l'88%_{w/w} della fase grassa cristallina OBM, utilizzando un sistema rotore-statore (Ultra-Turrax T50, IKA, Germania) a 7600rpm, a 20°C, per un tempo pari a 1 minuto. Nell'Emu10 è stata ridotta la percentuale di burro di cacao della fase oleosa cristallina (85.2%_{w/w} di olio di oliva, 11.4%_{w/w} di burro di cacao e 3.4%_{w/w} di emulsionante) e all'88%_{w/w} di tale fase è stato addizionato il 12%_{w/w} di fase acquosa (0.1M di NaCl), emulsionando nelle stesse condizioni. I risultati di tali emulsioni sono stati confrontati con quelli del grasso alimentare commerciale, Flora (Unilever, Spagna).

Misure sperimentali.

Misure reologiche

La caratterizzazione reologica su tutti i campioni investigati è stata effettuata tramite prove in oscillatorio a 20°C, utilizzando un reometro a sforzo controllato Haake Mars (Thermo Scientific, Germania; figura 3.4.1), disponibile nel laboratorio del prof. C. Gallegos presso il Departamento de Ingeniería Química, Química Física y Química Orgánica, dell'Universidad de Huelva, equipaggiato con una geometria piatto-piatto zigrinato ($\phi=35$ mm, gap 1 mm) e, per controllare la temperatura, un bagno termostatico connesso al piatto sottostante.

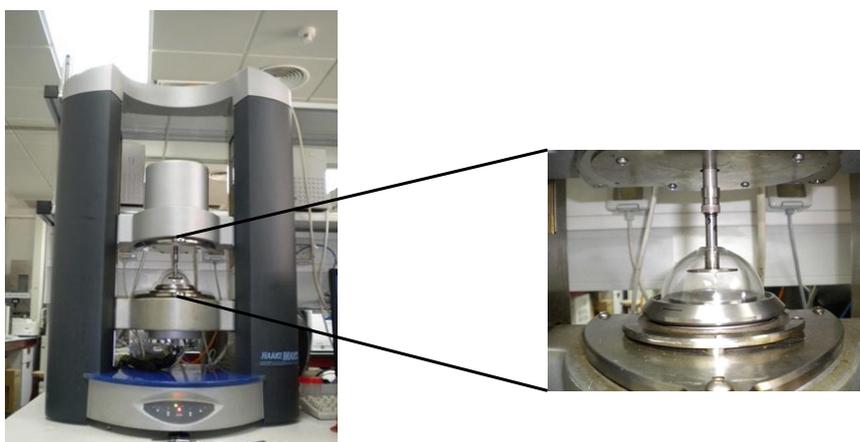


Figura 3.4.1: Reometro Haake Mars

Tutti i campioni della fase grassa cristallina OBM, delle emulsioni Emu10 ed Emu20, e del grasso commerciale Flora sono stati studiati a 20°C, temperatura rappresentativa delle condizioni di processo, tramite Stress Sweep Tests a 1 Hz, per valutare le condizioni di viscoelasticità lineare, e Frequency Sweep Tests, nella regione viscoelastica lineare, in un intervallo 0.1-10 Hz, in triplicato. Quando i materiali sono testati in un intervallo lineare, le funzioni materiali non dipendono dalla grandezza dello stress, della deformazione o della velocità di deformazione (Steffe, 1996).

Le proprietà meccaniche sono state descritte tramite una legge di potenza tra il modulo dinamico complesso, G^* , e la frequenza di oscillazione, ω , seguendo il modello del “weak gel”. L'interpolazione di tutti i dati è stata effettuata con il software Table Curve 2D (Jandel Scientific, USA).

Come riportato precedentemente, il comportamento reologico delle emulsioni è stato confrontato con quello del grasso alimentare, al fine di verificarne una potenziale applicazione come sostitutivo salutare dei grassi alimentari esistenti sul mercato.

Misure calorimetriche.

L'analisi calorimetrica è stata condotta sia sulle emulsioni che sulle materie prime utilizzando un DSC-Q100 (TA Instruments, EE.UU., figura 3.4.2), per verificare se il campione era influenzato dal tempo di conservazione (1 giorno, 7 giorni e 21 giorni) o dai singoli prodotti che lo compongono.

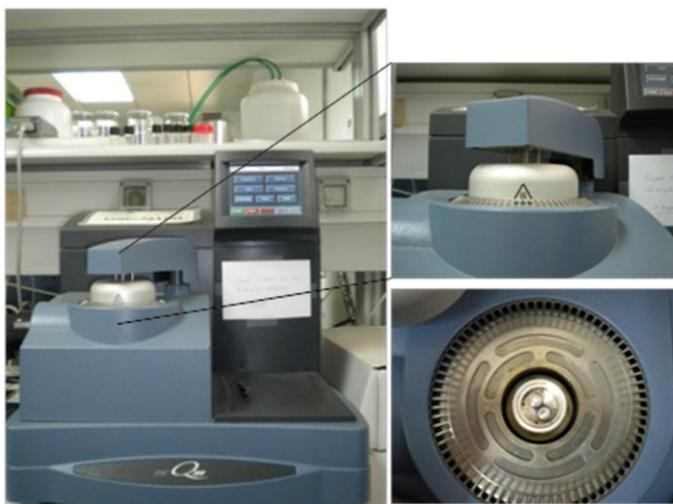


Figura 3.4.2: Calorimetro DSC-Q100

Analisi di microscopia

Poiché molte emulsioni alimentari sono sistemi complessi in termini di composizione e di struttura, si è pensato di eseguire un'analisi qualitativa tramite micrografie al microscopio ottico a luce polarizzata, disponibile presso il Departamento de Ingeniería Química, Química Física y Química Orgánica, dell'Universidad de Huelva, per verificare se i cristalli di grasso, ponendosi all'interfaccia delle gocce di emulsione, potessero aiutare la stabilità delle emulsioni fornendo una barriera fisica alla coalescenza delle particelle (Rousseau, 2000). Le microfotografie sono state effettuate con fotocamera incorporata al microscopio ottico Olympus BX 51 (Tokyo, Giappone, figura 3.4.3) ad un ingrandimento 10X-20X.

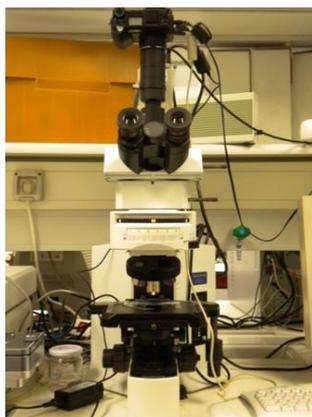


Figura 3.4.3: Microscopio ottico Olympus BX 51.

3.5. Risultati e Discussione.

Risultati della caratterizzazione reologica.

Le caratteristiche reologiche e meccaniche delle emulsioni W/O, preparate con una fase oleosa strutturata, sono strettamente correlate alla formazione dei cristalli all'interno della fase oleosa (Macierzanka et al., 2009; Coupland, 2002; McClements, 1999). Pertanto, allo scopo di studiare la cristallizzazione e, soprattutto, la sua influenza sulla reologia della fase strutturata è stata condotta una caratterizzazione reologica della fase oleosa necessaria per produrre l'Emu20. In questa fase del lavoro inizialmente è stato scelto di analizzare la fase oleosa del campione; successivamente sono state preparate due diverse emulsioni tramite l'ottimizzazione della preparazione di emulsioni ottenuta in lavori precedenti (Lupi, 2010). In particolare, i campioni Emu10 ed Emu20 sono preparati mantenendo le stesse condizioni operative dei lavori precedenti, ma cambiando la quantità di olio d'oliva e burro di cacao nella fase oleosa.

La fase grassa cristallina è stata caratterizzata a distanza di giorni per studiare quale fosse l'effetto dell'invecchiamento (1 giorno, 7 giorni e 21 giorni) e, per verificare la riproducibilità della fase oleosa, si è provveduto a ripreparare tre campioni aventi identica composizione e denominati OBMa, OBMb e OBMc.

Come esempio, per la fase grassa cristallina OBM si presentano i risultati dello Stress Sweep Test (figura 3.5.1), per determinare la regione di viscoelasticità lineare del materiale,

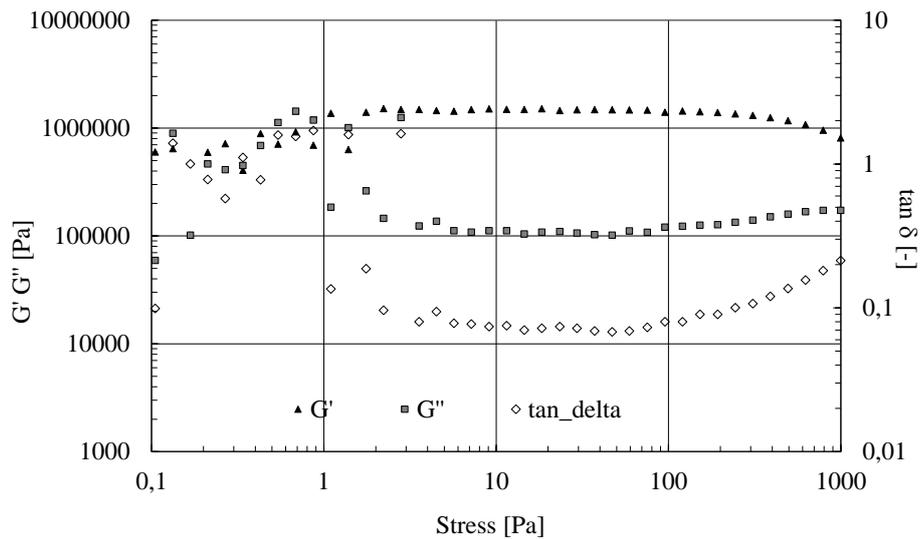


Figura 3.5.1: tipico Stress Sweep Test per la fase cristallina OBM

e del Time Sweep Test (figura 3.5.2), per valutare il tempo di attesa necessario affinché il campione rilassi gli eventuali sforzi dovuti al caricamento sul piatto del reometro e si porti alla temperatura del piatto stesso.

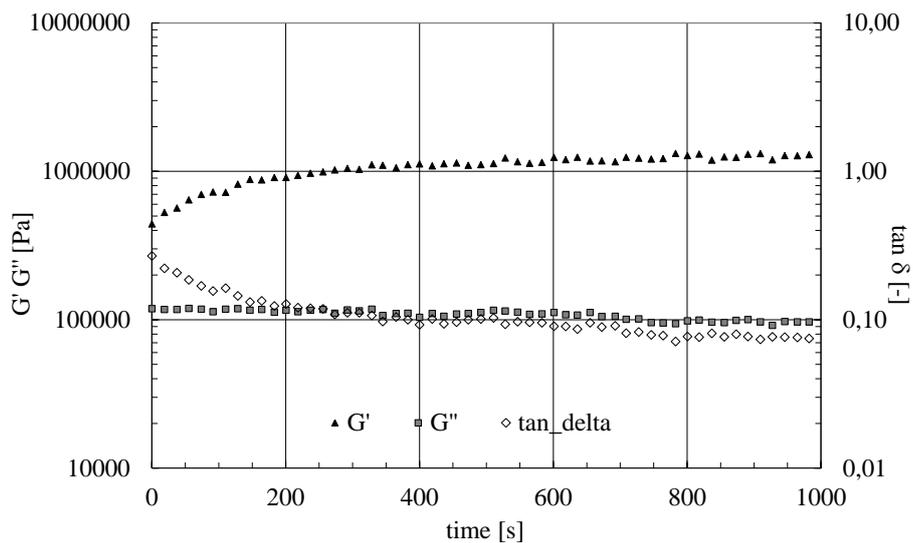


Figura 3.5.2: tipico Time Sweep Test per la fase cristallina OBM

Per studiare quale fosse l'effetto dell'invecchiamento e della ripetibilità sulla fase oleosa, i tre campioni OBMa, OBMb, e OBMc, aventi identica composizione, sono stati caratterizzati tramite tre Frequency Sweep Test, ognuno dei quali è stato effettuato a diversi giorni di conservazione, un giorno, sette e ventuno giorni. In particolare, di seguito sono riportati i grafici di ogni campione, OBMa, OBMb, e OBMc della fase oleosa, ai

diversi tempi di conservazione, in termini di modulo complesso, G^* e di tangente di sfasamento, $\tan(\delta)$, in funzione della frequenza, ω , (figura 3.5.3).

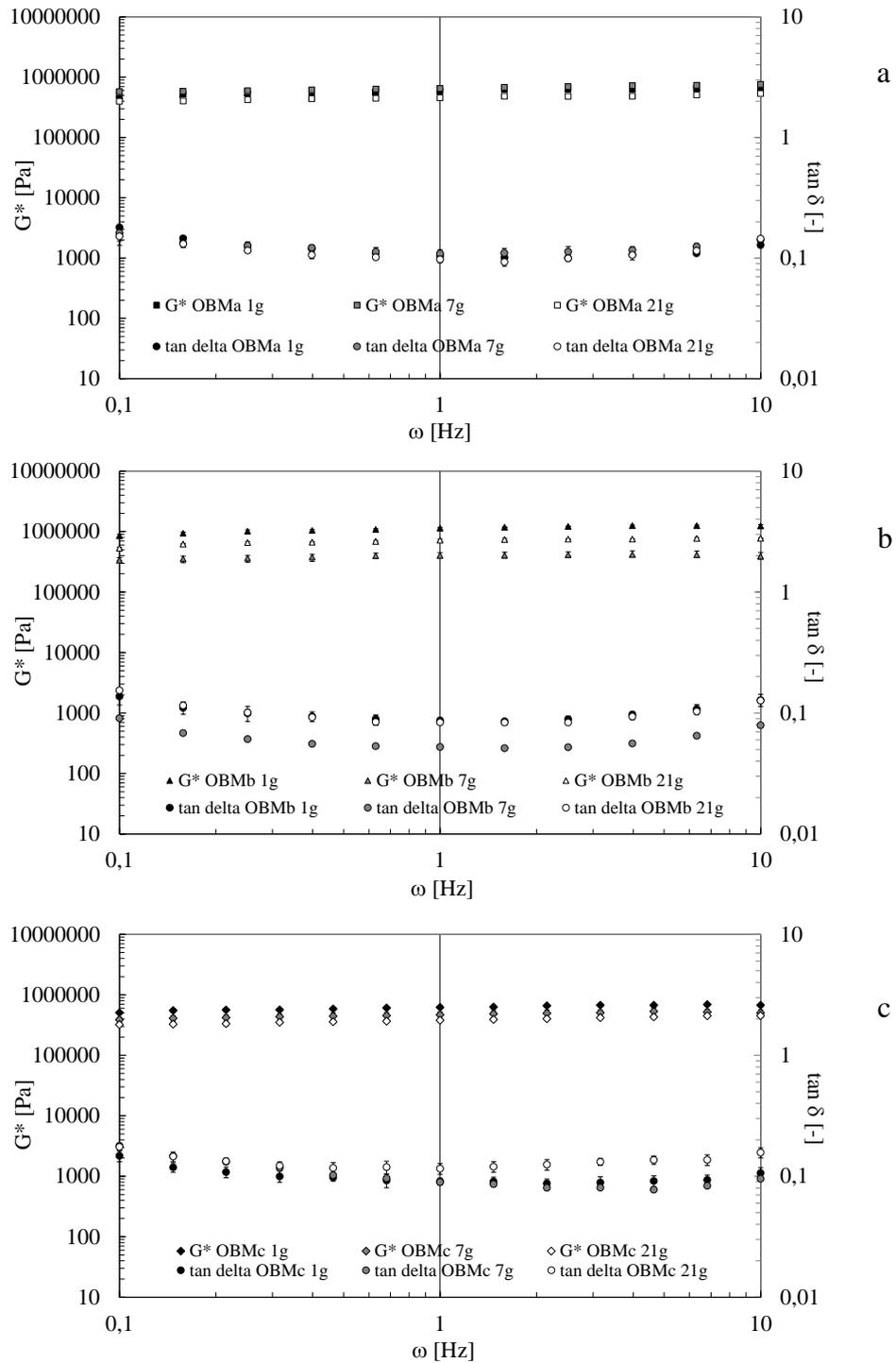


Figura 3.5.3: Frequency Sweep Test di confronto effettuati ad 1 giorno, 7 giorni e 21 giorni di conservazione per ciascun campione OBM (a, b e c).

Come è possibile osservare nei grafici di confronto, al passare dei giorni di conservazione, i valori del modulo complesso, G^* , si sono mantenuti pressoché costanti, per i campioni OBMa e OBMc, ma il campione OBMb non ha riportato i medesimi risultati. Come ulteriore confronto i dati dei tre diversi campioni, OBMa, OBMb, e OBMc, della fase oleosa, sono stati diagrammati al medesimo tempo di conservazione, un giorno, sette giorni e ventuno giorni (figura 3.5.4).

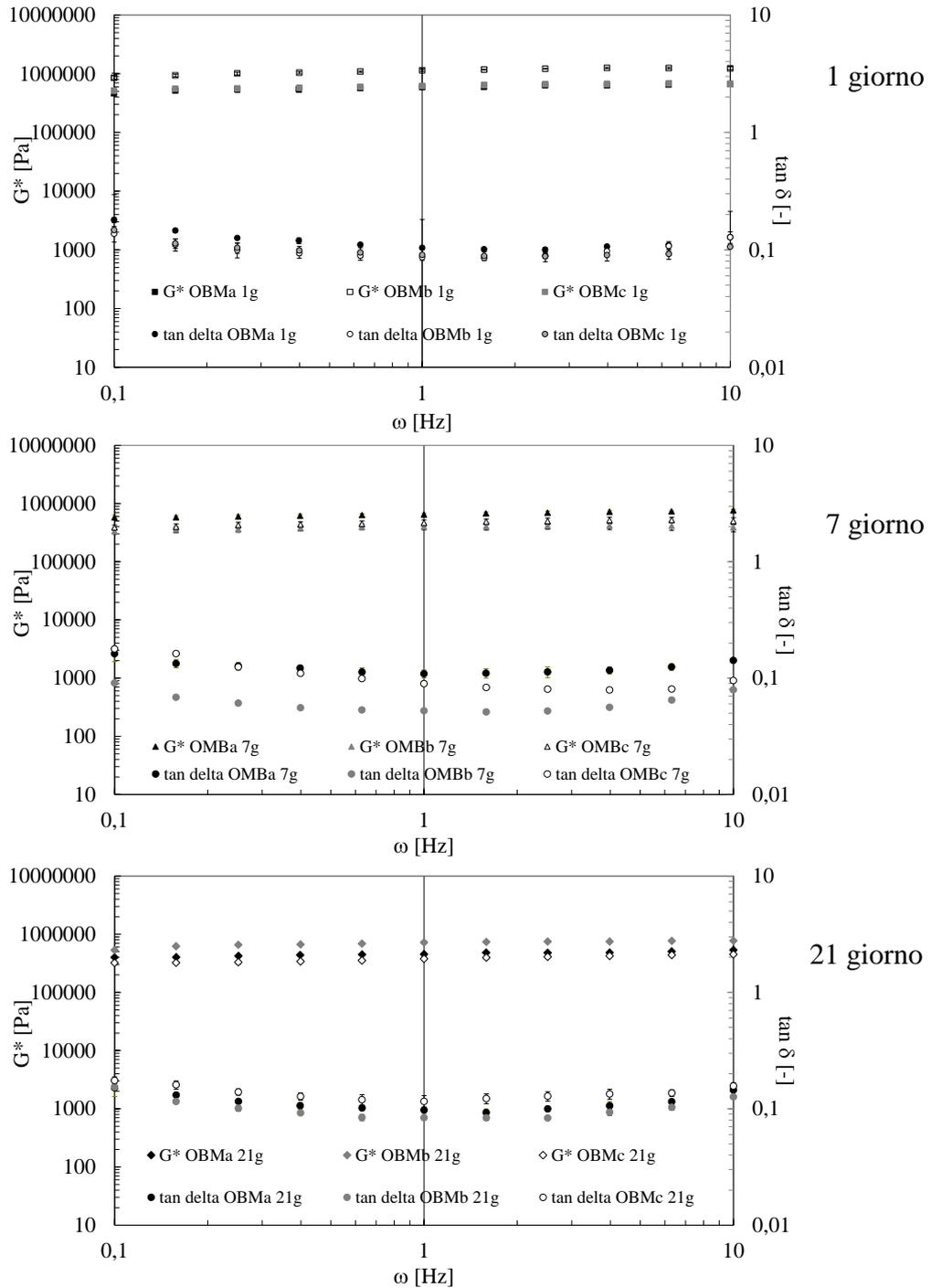


Figura 3.5.4: Frequency Sweep Test di confronto della fase oleosa dei campioni OBMa, OBMb e OBMc ad 1 giorno, 7 giorni e 21 giorni di conservazione

In questo caso, in tutti e tre i grafici di confronto, i valori del modulo complesso G^* , per i campioni OBMa e OBMc, si sono mantenuti pressoché costanti, mentre i valori di G^* del campione OBMb si discostano, rispetto agli altri, a tutti i giorni di conservazione. A causa della modesta riproducibilità del campione ci si è resi conto di quanto fossero critici sia il tempo di conservazione che la metodica di preparazione dei campioni. In ogni caso, tutti i campioni sono caratterizzati da un comportamento di tipo solido essendo il modulo elastico, G' , sempre superiore al modulo dissipativo, G'' , nell'intervallo di frequenza di indagine; la tangente di sfasamento, $\tan(\delta)$ è poi sempre inferiore all'unità, e ciò conferma questo comportamento.

Le proprietà meccaniche della fase oleosa cristallina possono essere descritte applicando il modello del “weak gel” ai frequency sweep test, sono quindi stati ottenuti i parametri A e z , di seguito diagrammati (figura 3.5.5):

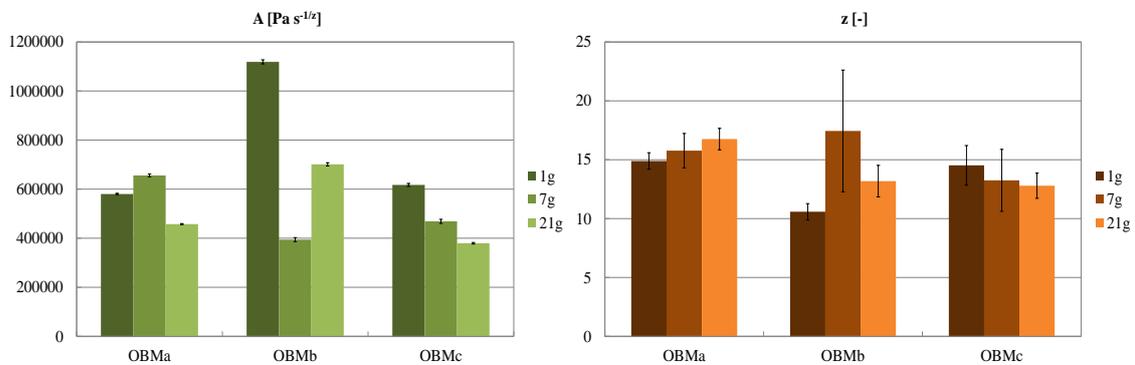


Figura 3.5.5: Confronto dei parametri A e z del modello del weak gel per i campioni OBMa, OBMb e OBMc a diversi giorni di conservazione.

$$G^*(\omega) = \sqrt{(G'^2 + G''^2)} = A \cdot \omega^{\frac{1}{z}}$$

I dati analizzati tramite tale modello hanno evidenziato che, dal confronto dei campioni al variare del tempo di conservazione, i campioni OBMa e OBMc presentano valori sia della forza di interazione (A), che di estensione del network (z) differenti, mentre per la fase oleosa OBMb entrambi i parametri risultano essere molto diversi nei differenti giorni.

In un secondo momento, si è valutato il comportamento reologico delle due emulsioni Emu10 ed Emu20 e del grasso alimentare Flora a 20°C, con uno Stress Sweep Test ad 1 Hz per valutare le condizioni di viscoelasticità lineare, e con un Frequency Sweep Test, nella regione viscoelastica lineare, nell'intervallo tra 0,1 e 10 Hz. Le proprietà meccaniche

sono state descritte con la legge di potenza del “weak gel”. Come esempio, si riportano i risultato dello Stress Sweep Test per l’emulsione Emu10 (figura 3.5.6).

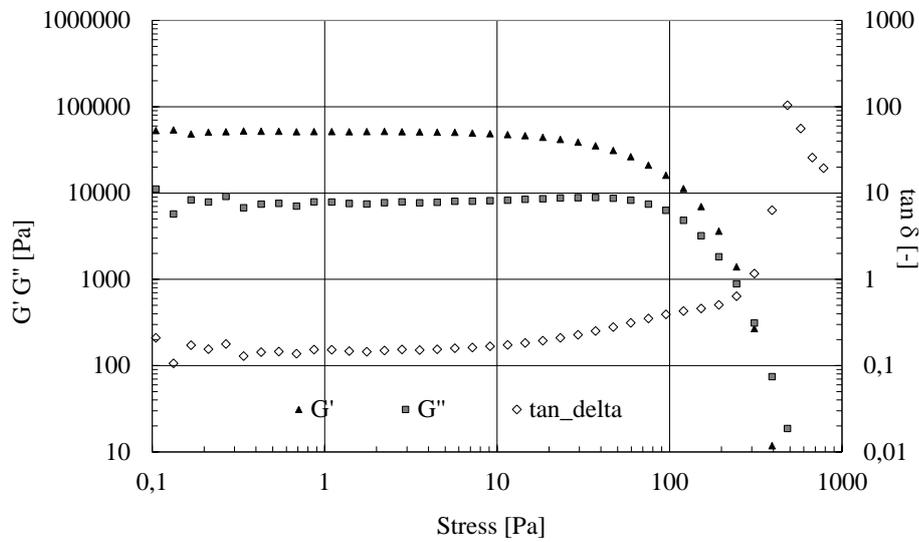


Figura 3.5. 6: Stress Sweep Test per l’emulsione Emu10

e del Time Sweep Test (figura 3.5.7).

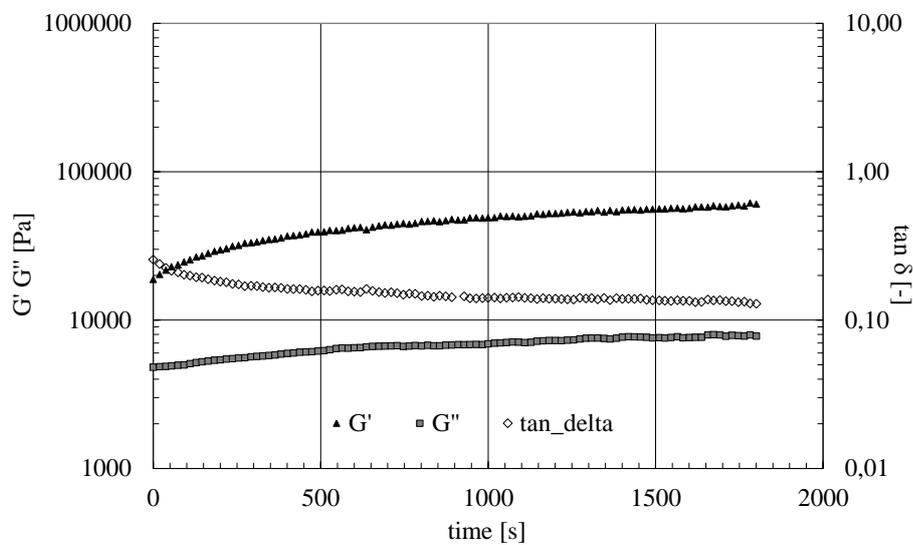


Figura 3.5. 7: Time Sweep Test per l’emulsione Emu10.

Di seguito sono rappresentati G^* e $\tan(\delta)$ in funzione della frequenza dopo diverso tempo di conservazione (1 giorno, 7 giorni e 21 giorni) per l'emulsione Emu10 (figura 3.5.8).

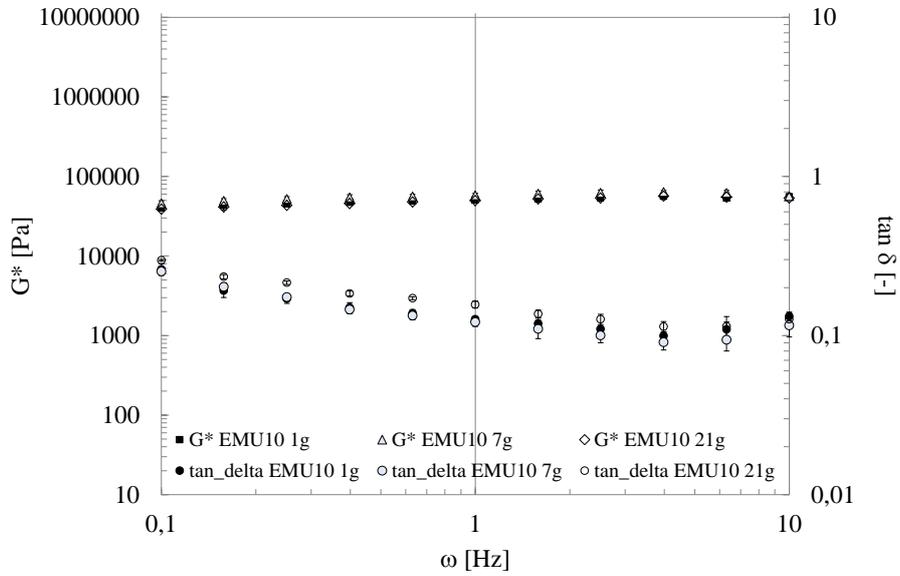


Figura 3.5. 8: Frequency Sweep Test per l'emulsione Emu10

e per l'emulsione Emu20 (figura 3.5.9).

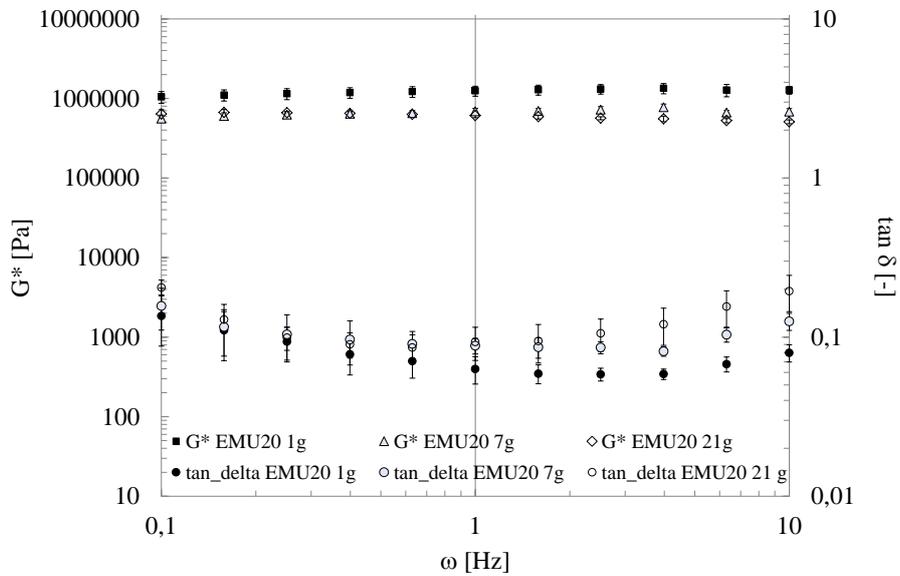


Figura 3.5. 9: Frequency Sweep Test per l'emulsione Emu20.

Il contenuto di burro di cacao è stato del 10%_{w/w} nel campione Emu10, mentre la quantità totale di burro di cacao è stato aumentato al 20%_{w/w} nel campione Emu20. Si mostra il confronto dei Frequency Sweep Test delle emulsioni ottenute (figura 3.5.10).

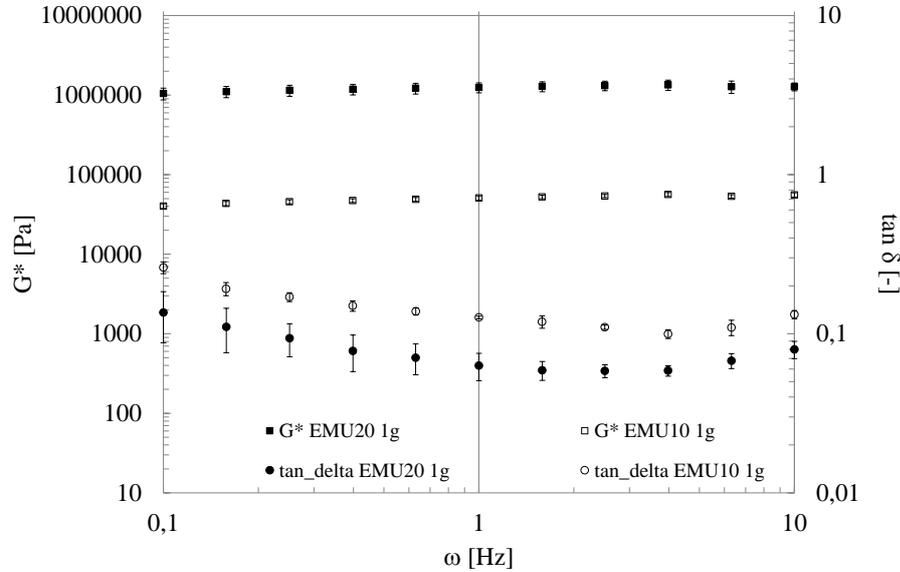


Figura 3.5. 10: Frequency Sweep Test di confronto tra le emulsioni Emu10 ed Emu20 dopo 1 giorno di conservazione.

Come previsto, la percentuale maggiore di burro di cacao migliorava la consistenza finale della emulsione W/O di un ordine di grandezza. Si riporta il grafico relativo al Frequency Sweep Test condotto sulla margarina Flora in termini del modulo elastico, G' , del modulo viscoso, G'' , e della tangente di sfasamento, $\tan(\delta)$ (figura 3.5.11).

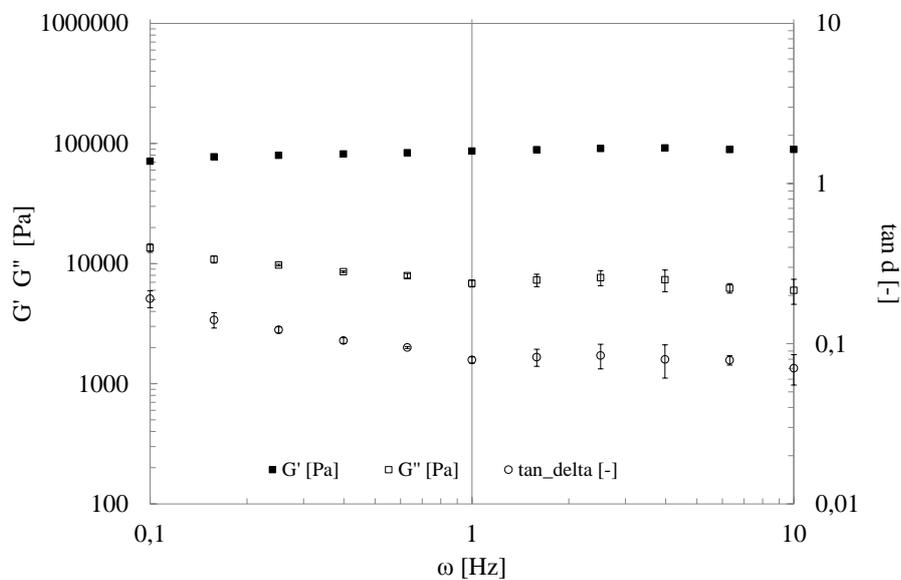


Figura 3.5.11: Frequency Sweep Test in termini di G' , G'' e $\tan(\delta)$ per il grasso commerciale.

Come si può osservare, tutti i campioni sono caratterizzati da un comportamento solid-like essendo G' sempre maggiore di G'' nell'intervallo di frequenza indagato. La $\tan(\delta)$, sempre inferiore all'unità, conferma questo comportamento.

Si propone un confronto del G^* e di $\tan(\delta)$ delle emulsioni e del grasso commerciale (figura 3.5.12).

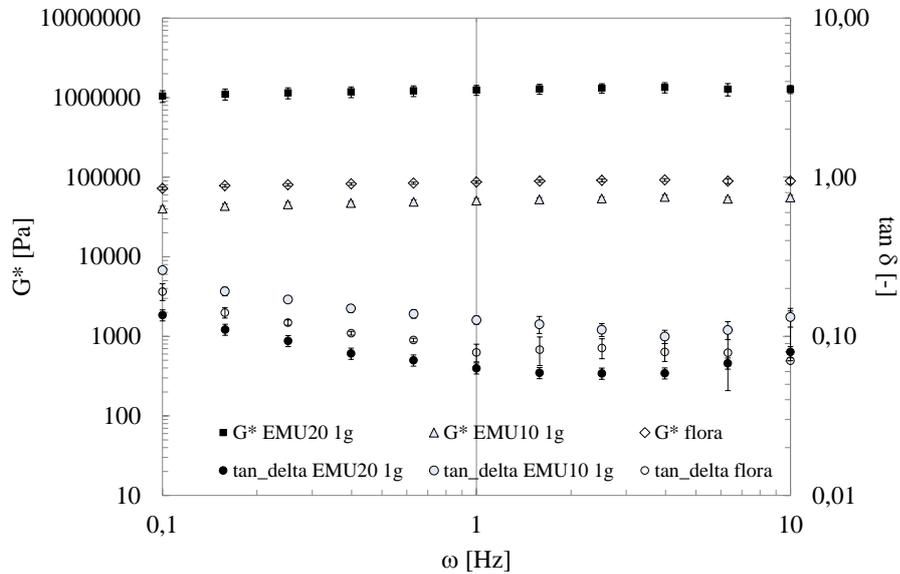


Figura 3.5.12: Frequency Sweep Test di confronto in termini di G^* e di $\tan(\delta)$ delle emulsioni e del grasso commerciale

La quantità di burro di cacao utilizzato nell'Emu20 è superiore alla quantità necessaria per ottenere le caratteristiche reologiche desiderate in un grasso tipico. Infatti, una frazione del burro di cacao leggermente superiore al 10%_{w/w} sembra essere sufficiente a produrre un sostituto della margarina, garantendo così una bassa quantità totale di grassi aggiunti rispetto alle margarine utilizzate nella produzione di pasticceria.

Applicando il modello del “weak gel” si sono ottenuti i seguenti valori di A e z :

	$A [Pa s^{1/z}]$	$z[-]$
Emu10	55109±564	15.1±1.6
Emu20	594831±3714	15.3±1.0
Flora	86009±479	16.9±1.3

$$G^*(\omega) = \sqrt{(G'^2 + G''^2)} = A \cdot \omega^{\frac{1}{z}}$$

I campioni Emu10 ed Emu20 sembrano fornire una corretta estensione del network, in quanto i parametri z sono simili a quelli del grasso commerciale ma la forza del network cresce eccessivamente quando si aggiunge il burro di cacao.

Risultati delle misure calorimetriche

Al fine di effettuare una caratterizzazione calorimetrica qualitativa delle materie prime e della fase oleosa è stato utilizzato un DSC-Q100 (TA Instruments, EE.UU.).

Si presentano le scansioni di calorimetria differenziale in fase di riscaldamento della fase oleosa OBM dopo diverso tempo di conservazione 1 giorno, 7 giorni e 21 giorni:

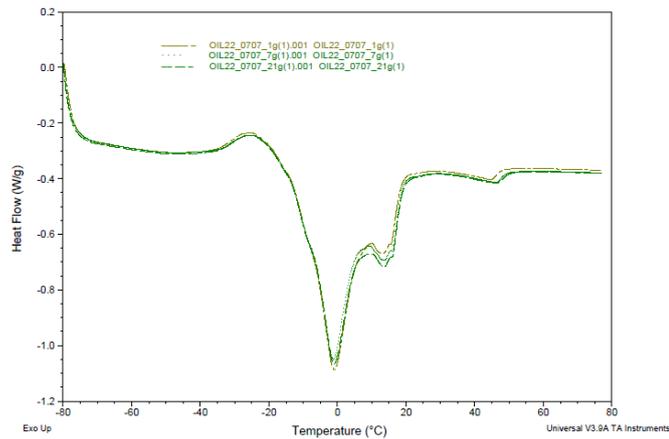


Figura 3.5.13: scansione calorimetrica della fase oleosa OBM dopo diversi giorni di conservazione.

dell'olio d'oliva, del burro di cacao e del Myverol:

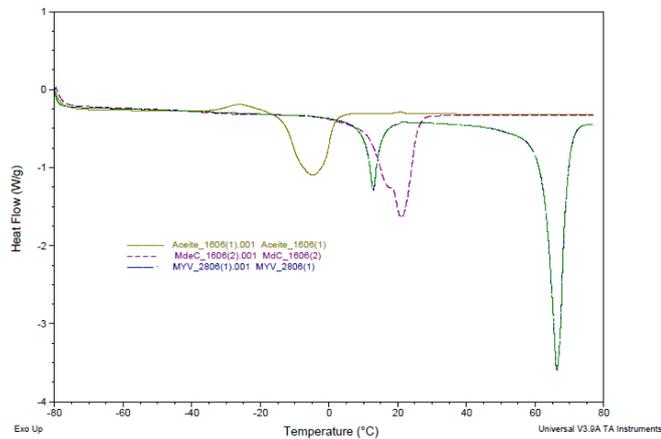


Figura 3.5.14: scansione calorimetrica dell'olio d'oliva, del burro di cacao e del Myverol.

ed un grafico di confronto :

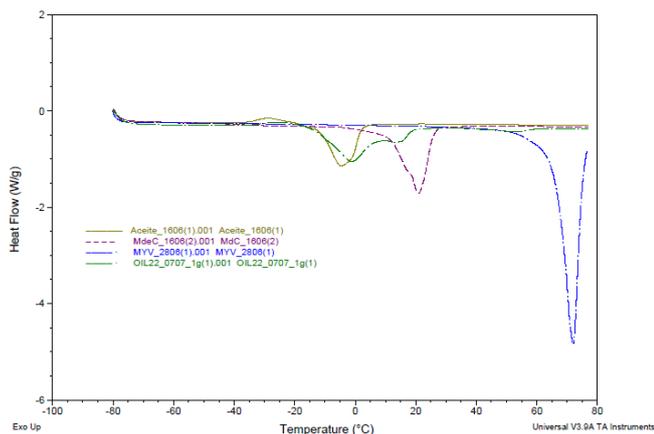


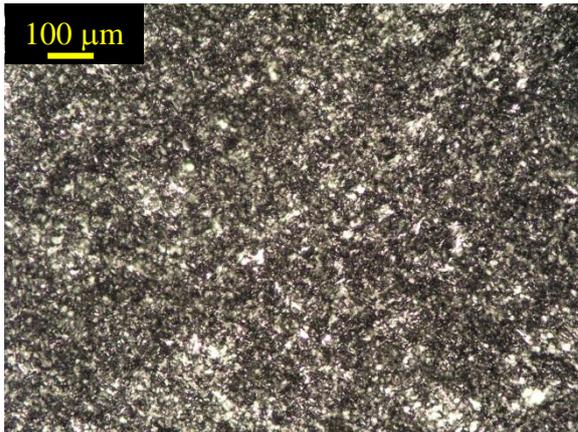
Figura 3.5.15: scansione calorimetrica di confronto della fase oleosa OBM, dell'olio d'oliva, del burro di cacao e del Myverol.

L'effetto del tempo di conservazione (1 giorno, 7 giorni e 21 giorni), sembra non influenzare il campione OBM; i singoli componenti, che presentano picchi distinti, contribuiscono al comportamento dell'intera fase oleosa.

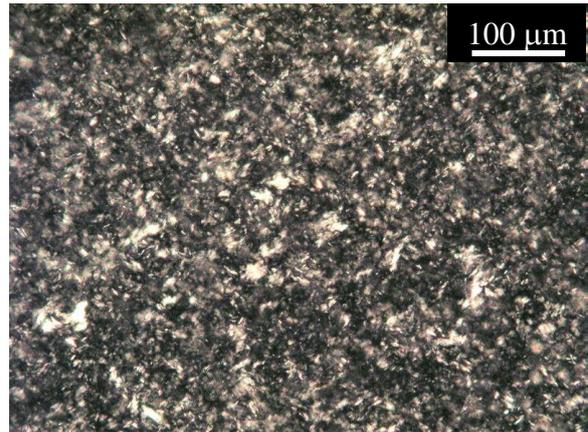
Risultati dell'analisi di microscopia.

Si è deciso di effettuare delle micrografie alla fase oleosa OBMA dopo un diverso tempo di conservazione (1 giorno, 7 giorni e 21 giorni), mediante un microscopio ottico a luce polarizzata, per esaminare la microstruttura dei cristalli (con un aumento di 10X e 20X) (Figura 3.5.16):

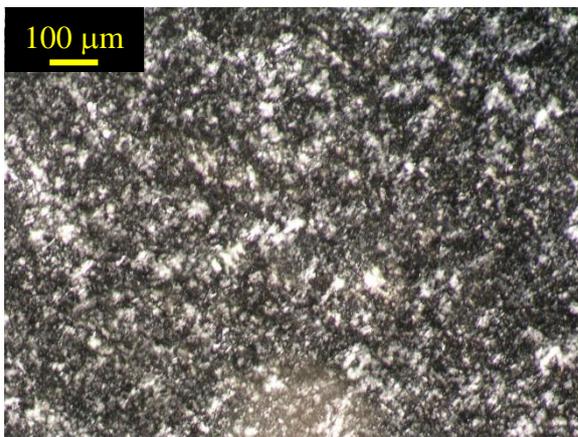
OBMa 1d 10X



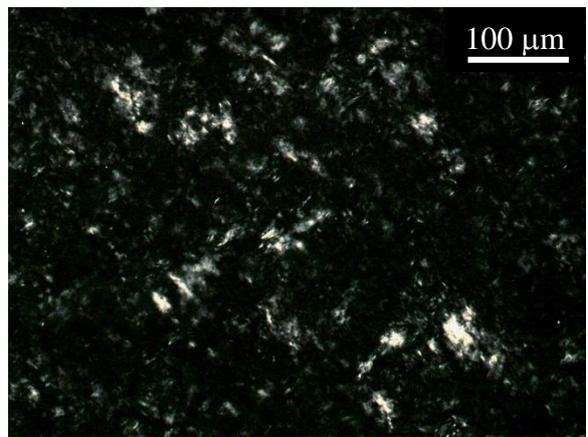
OBMa 1d 20X



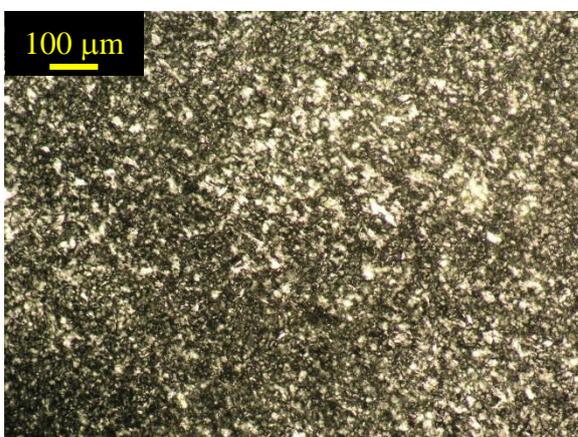
OBMa 7d 10X



OBMa 7d 20X



OBMa 21d 10X



OBMa 21d 20X

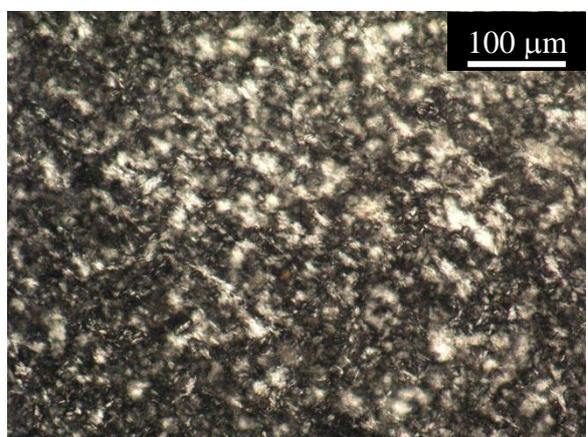
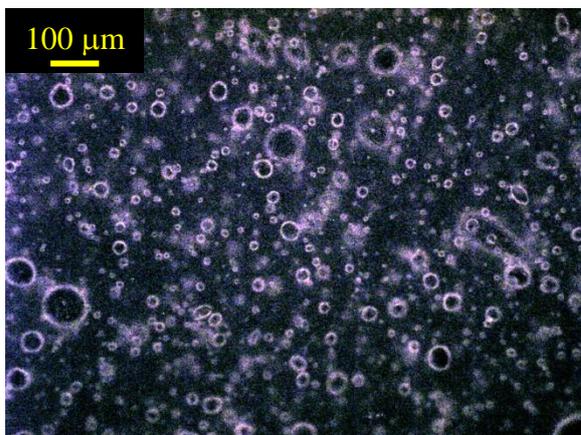


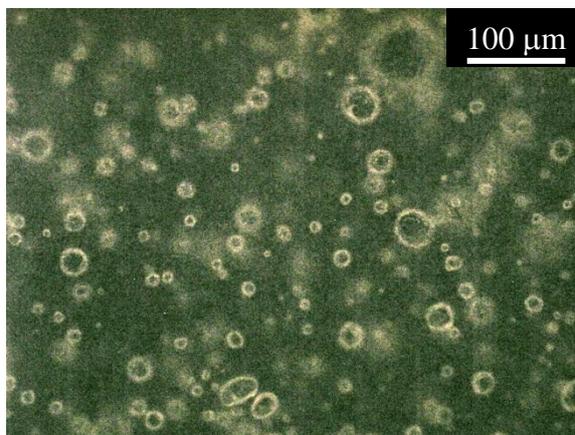
Figura 3.5.16: micrografie della fase oleosa OBMa dopo 1 giorno, 7 giorni e 21 giorni con un aumento di 10X e 20X.

Nella figura 3.5.17 sono rappresentate le microfotografie dell'emulsione Emu10 dopo 1 giorno, 7 giorni e 21 giorni:

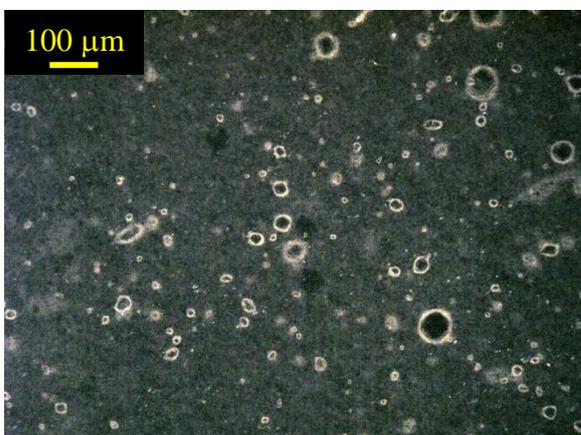
Emu10 1d 10X



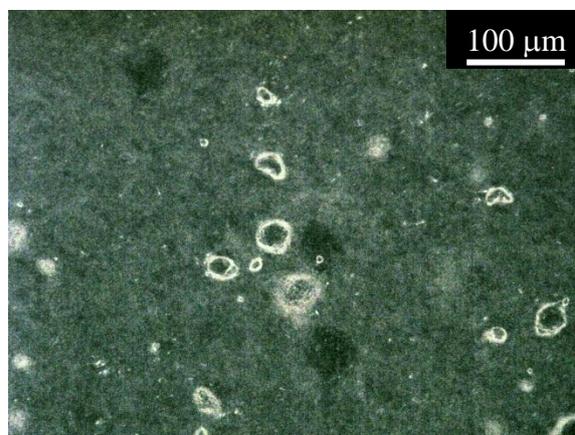
Emu10 1d 20X



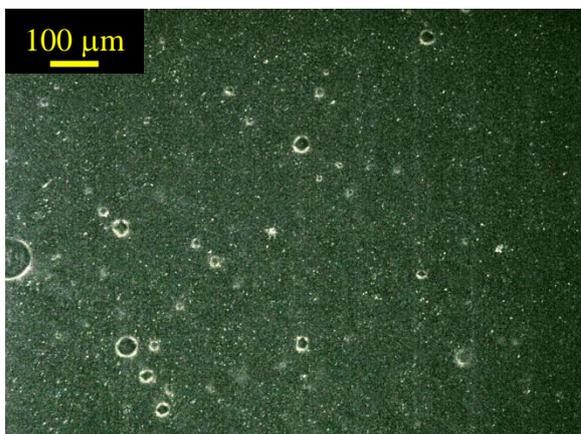
Emu10 7d 10X



Emu10 7d 20X



Emu10 21d 10X



Emu10 21d 20X

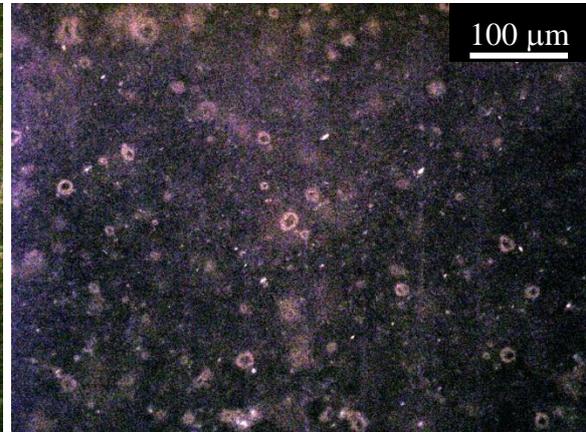
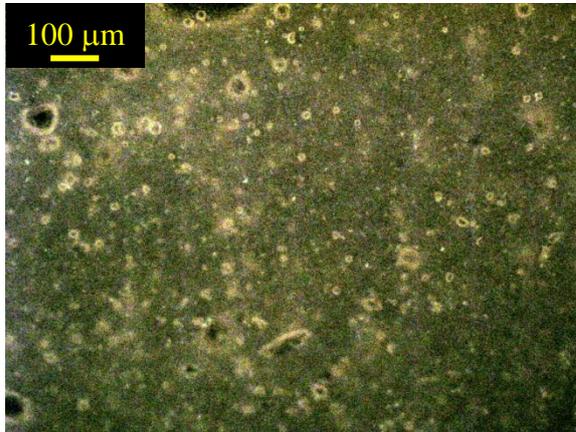


Figura 3.5.17: microfotografie dell'emulsione Emu10 dopo 1 giorno, 7 giorni e 21 giorni con un aumento di 10X e 20X.

Si presentano le micrografie dell' emulsione Emu20 dopo 1 giorno, 7 giorni e 21 giorni, sempre attraverso un microscopio ottico a luce polarizzata, per vedere se i cristalli di grasso si pongono all'interfaccia delle goccioline dell'emulsione (Figura 3.5.18):

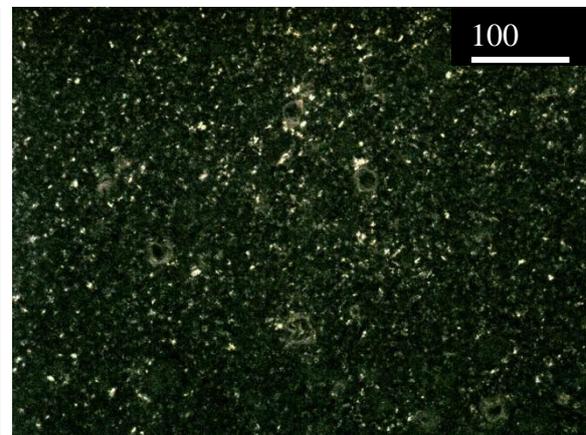
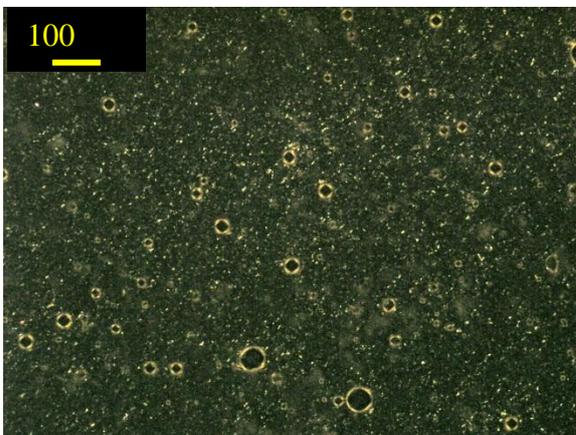
Emu20 1d 10X

Emu20 1d 20X



Emu20 7d 10X

Emu20 7d 20X



Emu20 21d 10X

Emu20 21d 20X

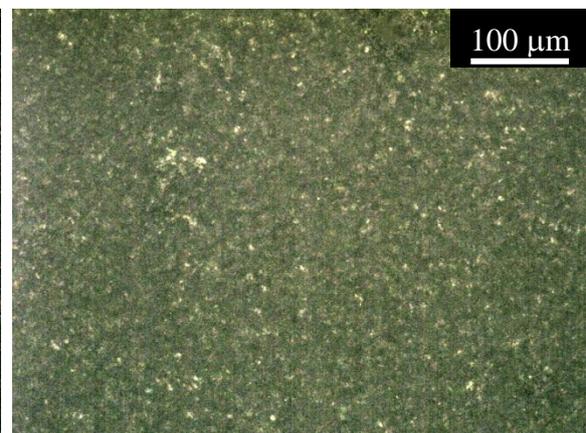
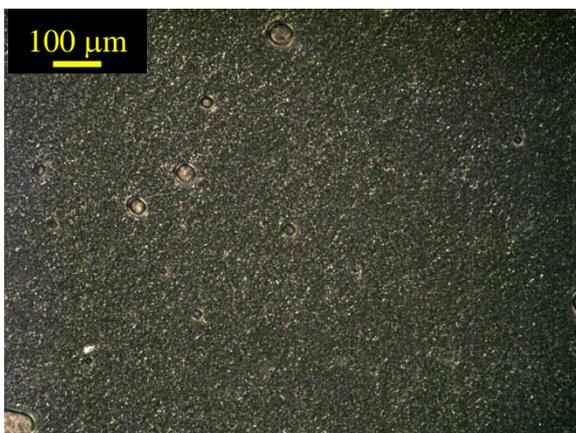


Figura 3.5.18: micrografie dell'emulsione Emu20 dopo 1 giorno, 7 giorni e 21 giorni con un aumento di 10X e 20X.

Nella fase oleosa OBMa si può osservare un accrescimento della microstruttura dei cristalli dovuto all'invecchiamento del campione.

Nel caso delle emulsioni, i cristalli di grasso, ponendosi all'interfaccia delle gocce, sembrano contribuire alla stabilità delle emulsioni stesse, realizzando una barriera fisica per la coalescenza delle particelle; ciò è ben evidente nella micrografia dopo un giorno di conservazione, ma non è così visibile nelle microscopie dei giorni seguenti. Inoltre, l'aggregato più piccolo si può osservare nel campione Emu20, che ha la rete più forte e strutturata a causa della maggiore quantità di burro di cacao.

I risultati ottenuti durante questa fase della ricerca sperimentale hanno permesso di entrare in merito alle problematiche relative al processo di cristallizzazione dei grassi complessi, di analizzare l'effetto della quantità totale di burro di cacao sulle caratteristiche reologiche delle emulsioni finali, come alternativa alla produzione della margarina e di valutare un cambiamento nell'approccio allo studio della cristallizzazione della fase oleosa.

CAPITOLO IV

Molti dei prodotti alimentari che tradizionalmente consumiamo contengono grassi che forniscono gusto, consistenza e sensazione al palato a cui siamo abituati e che associamo alla sopravvivenza. Questi grassi solidi sono strutturati usando o grassi animali o grassi vegetali saturi come lardo, grasso del latte, olio di cocco o grasso di palma o usando oli che sono stati sottoposti a idrogenazione (Marangoni, et al., 2007). Come è stato detto nei capitoli precedenti una delle tecniche più comunemente usate per aumentare la durezza dei grassi, come la margarina, è la cristallizzazione della fase oleosa, che passa per processi industriali di idrogenazione parziale di oli vegetali. Il processo di idrogenazione converte naturalmente gli acidi grassi insaturi da cis in trans, con il risultato che si ha un aumento del punto di fusione (Ghotra, 2002), ma di contro possono avere implicazioni negative sulla salute umana. Inoltre l'aumento dell'obesità e del sovrappeso negli adulti, ma soprattutto nei bambini, è allarmante in particolar modo perché questi problemi sono fortemente correlati ad un'incidenza maggiore di disturbi cardiovascolari, di diabete tipo 2, di ipertensione e infarto, oltre ad alcune forme di cancro. Come parte di una strategia necessaria per ridurre tali fattori di rischio, devono essere fatte due importanti raccomandazioni legate alla dieta: la prima riguarda il raggiungimento dell'equilibrio energetico e del peso forma; l'altra è quello di limitare l'apporto energetico proveniente dai grassi, sostituendo quindi il consumo di grassi saturi con oli insaturi ed eliminando completamente dalla dieta gli acidi grassi di tipo trans. Un modo per contribuire a raggiungere questi obiettivi e apportare quindi un miglioramento significativo alla salute dei consumatori, è quello di migliorare il profilo nutrizionale dei prodotti alimentari; ciò, però, rappresenta una scelta tecnologica dell'industria alimentare (Marangoni, et al., 2007). Di recente, un crescente interesse è stato focalizzato sugli organogel indirizzando gli sforzi più considerevoli per migliorare la comprensione della natura di questi assemblaggi. Gli organogel sono sistemi solid-like basati sulla gelificazione di solventi organici ottenuti o mediante componenti a basso peso molecolare o con polimeri solubili in olio capaci di costruire reti tridimensionali che intrappolano il solvente liquido (Gronwald, et al., 2002). Lo studio rivolto alla comprensione degli organogel ha permesso di sviluppare strutture specifiche per diverse applicazioni, come quelle farmaceutiche, cosmetiche, della conservazione artistica ed in particolare nell'industria alimentare (Pernetti et al., 2007b). È

quindi stata trovata una valida alternativa alla produzione della fase oleosa nella gelificazione della fase olio tramite l'aggiunta di sistemi organici gelificanti come i trigliceridi (TAG), i digliceridi (DAG) e i monogliceridi (MAG) degli acidi grassi, in particolare, i mono e digliceridi degli acidi grassi sembrano essere di maggiore interesse, essendo comunemente utilizzati come emulsionanti nell'industria alimentare (Marangoni, 2009; Perneti et al., 2007a). I gelatori organici, promuovendo la formazione di un network cristallino, pare siano capaci di dare un'appropriata "texture" ai prodotti alimentari e stabilizzare molti sistemi eterogenei, anche a concentrazioni molto basse (~0.5-2%_{w/w}). Infatti, grazie all'elevata viscosità della fase oleosa gelificata, anche le goccioline grandi (fino a 200 µm) possono essere stabilizzate contro fenomeni quali: creaming, coalescenza o Ostwald ripening (Hughes et al., 2009). Inoltre il network cristallino tridimensionale fornisce la desiderata consistenza al prodotto finale.

Le caratteristiche meccaniche e reologiche delle emulsioni W/O che presentano una fase oleosa "strutturata" sono strettamente legate alla formazione dei cristalli nella fase oleosa stessa (Macierzanka et al., 2009; Coupland, 2002; McClements, 1999). Pertanto, durante la prima parte sperimentale condotta all'estero, si è scelto di esaminare la fase oleosa realizzando una caratterizzazione reologica e microstrutturale, per studiare l'effetto degli organogelatori e di una fonte naturale di acidi grassi saturi non trans sulla produzione di emulsioni W/O strutturate a base di olio d'oliva, come alternativa alla produzione della margarina, sostituendo gli ingredienti dannosi per la salute con i migliori ingredienti naturali. Il passaggio più delicato della produzione di grassi alimentari è risultato essere il processo di cristallizzazione; in particolare il raffreddamento repentino è risultato essere la fase critica della preparazione della fase oleosa, per tale ragione si è deciso di cambiare metodologia di preparazione della fase oleosa strutturata, condizionandola direttamente sul piatto del reometro. In questa ultima fase del lavoro è stata quindi condotta un'analisi reologica su organogel composti da olio d'oliva/burro di cacao/mono e di gliceridi degli acidi grassi, con formulazioni simili ai sistemi precedentemente studiati (Lupi et al., 2011), come una potenziale fase oleosa di emulsioni alimentari strutturate. Inoltre si è inteso capire meglio quale fosse il ruolo dell'organogel e del burro di cacao nei fenomeni di cristallizzazione ed i loro effetti sulle proprietà reologiche macroscopiche alle condizioni di equilibrio.

4.1. Caratterizzazione reologica

Per analizzare le caratteristiche reologiche e strutturali degli organogel è possibile applicare differenti metodi in modo da identificare la transizione della gelificazione, la reologia del gel e la morfologia dei cristalli. Per esempio, Ojijo e colleghi (2004) hanno studiato un sistema di olio d'oliva/monogliceride in funzione della velocità di raffreddamento, usando test dinamici e stazionari, ed investigando l'onset della cristallizzazione al variare del contenuto di monogliceridi. Da Pieve e collaboratori (2010) invece hanno valutato l'effetto dello shear su un network a base di olio di fegato di merluzzo e monogliceridi, trovando che le condizioni statiche portano alla formazione di un network forte. Molti autori hanno assunto come transizione sol-gel il valore di temperatura in cui G' supera il livello di rumore o quello a cui avviene il crossover (intersezione tra le curve di G' e G''). Il primo criterio sembra non essere sufficientemente rigoroso e non è molto utilizzato; l'altro è un modo semplice e veloce per stimare il punto di gelificazione, anche se il risultato ottenuto può essere determinato dalla frequenza adottata, per cui sarebbe opportuno adottare un approccio più rigoroso (teoria di Winter, 1989) (Lapasin e Pricl, 1995; Rao, 1999). In questo lavoro sono stati analizzati gli Steady Shear Temperature Ramp Test per valutare l'onset di cristallizzazione in condizioni stazionarie (Steady T_{co}) di diversi campioni ed è stata valutata la viscosità al diminuire della temperatura. L'insorgere della cristallizzazione è stato stimato come la temperatura (Steady T_{co}) a cui era osservato un forte aumento della pendenza della viscosità. Per valutare la Steady T_{co} è stata calcolata numericamente la derivata prima della viscosità, come funzione della temperatura, e ogni valore, diviso per la media mobile di tutte le derivate, dalla temperatura iniziale fino al valore corrente, dato il rapporto R: l'inizio della cristallizzazione è stato assunto come il valore di temperatura a cui R aumenta di almeno un ordine di grandezza. È stata realizzata un'analisi statistica dei dati sperimentali utilizzando il t-student test (Statgraphics Centurion XV, USA) e sono state considerate significative le differenze tra i campioni con un p-value < 0.05 (intervallo di confidenza del 95%).

Il metodo più utilizzato per caratterizzare i sistemi eterogenei è un approccio omogeneo, in cui viene analizzato l'effetto della eterogeneità sulla risposta del sistema. L'approccio viscoelastico permette di determinare sia il comportamento solido che quello liquido e, per ottenere queste informazioni utili, uno strumento molto importante sono i test di

oscillazione di piccola ampiezza. In particolare per studiare i fenomeni di cristallizzazione e i loro effetti sulle proprietà reologiche macroscopiche sono stati utilizzati i Dynamic Temperature Ramp Test. Lo strain applicato è stato modificato in accordo ai cambiamenti di temperatura, per garantire le condizioni di viscoelasticità lineare (valutati preliminarmente tramite Strain Sweep Test a 1Hz e a differenti temperature). Quando si prendono in considerazione gli organogel, insieme all'onset della cristallizzazione, evidenziata da un rapido incremento del modulo G^* , può essere definita una temperatura di “gelificazione”, T_g , semplicemente come il crossover tra G' e G'' . Il primo è legato ai fenomeni di cristallizzazione e all'aggregazione in grappoli dei cristalli, il secondo è dovuto alle interconnessioni degli aggregati per la costituzione del network cristallino tridimensionale. La temperatura di inizio cristallizzazione in condizioni dinamiche (T_{co}) è stata valutata con i Dynamic Temperature Ramp Test ed è stata stimata come la temperatura a cui era osservato un forte aumento del modulo complesso G^* (corrispondente, in molti casi, ad una forte diminuzione della curva tangente di sfasamento).

4.2. Materiali e metodi

Preparazione dei campioni

I campioni sono stati preparati usando olio vergine d'oliva commerciale (De Santis, Italia), burro di cacao (Icam S.P.A., Italia), mono e digliceridi di acidi grassi (Myverol 18-04K gentilmente fornito da Kerry Group, Irlanda). Secondo i dati forniti dai produttori, l'olio vergine di oliva è composto principalmente da grassi monoinsaturi (circa il 75%_{w/w}), il resto da grassi saturi (circa il 15%_{w/w}) e grassi polinsaturi (circa 10%_{w/w}), mentre il burro di cacao (Tabella 4.1) è composto principalmente da grassi saturi (56-68%_{w/w}) e grassi monoinsaturi (31-38%_{w/w}) e una minore quantità di grassi polinsaturi (2-4%_{w/w}).

Acidi Grassi	Composizione (% _{w/w})
Acido Stearico	32–37
Acido Oleico	30–37
Acido Palmitico	23–30
Acido Linoleico	2–4
Acido Arachico	< 1
Acido Palmitoleico	< 1

Tabella 4.1: Composizione media del burro di cacao adottato (ICAM, 2008).

Durante la seconda fase della ricerca, svolta presso il Laboratorio di Reologia ed Ingegneria Alimentare (La.R.I.A.) dell'Università della Calabria, sono state preparate differenti fasi oleose al variare del rapporto olio d'oliva/burro di cacao/myverol.

L'olio è stato preriscaldato fino a 70°C in un bagno di acqua termostata da una piastra (Jolly 2, Falc Instruments, Italia) e poi mescolato contemporaneamente (RW 20, IKA, Germania) con le opportune quantità di Myverol 18-04K e/o con burro di cacao (Garti et al. 1998). Tutti i campioni sono stati portati a 70°C prima di eseguire il test.

Le composizioni e gli identificatori dei campioni sono mostrati in Tabella 4.2.

ID Campione	Olio d'oliva (% _{w/w})	Burro di Cacao (% _{w/w})	Myverol (% _{w/w})	Rapporto B/O (-)	T _{co} (°C)	T _g (°C)	Steady T _{co} (°C) f($\dot{\gamma}$)
O	100,0						
B		100			20.3 ± 0.1	N.G.	
OB1	88,2	11,8	0	0,134	12.2 ± 0.3	N.G.	
OB2	95,9	4,1	0	0,043	N.C.	N.G.	
OB3	96,5	3,5	0	0,036	N.C.	N.G.	
BM1		99	1		35.4 ± 0.3	31.9 ± 0.5	28 ± 3
BM2		98	2		39 ± 1	36.2 ± 0.1	
OM1	99,9		0,1		N.C.	N.G.	
OM2	99,5		0,5		21 ± 1	N.G.	17.7 ± 2.7
OM3	99				30.4 ± 0.8	N.G.	27 ± 1
OM4	98,5		1,5		36.5 ± 0.1	32.1 ± 0.4	32 ± 1
OM5	98		2		39.3 ± 0.2	34.9 ± 0.1	
OM6	97		3		41.7 ± 0.5	39.9 ± 0.1	41.6 ± 0.5
OBM1	94	4	2	0,043	37.3 ± 0.2	29.4 ± 0.6	38.2 ± 0.9
OBM2	49	49	2	1,000	40.1 ± 0.7	35 ± 1	
OBM3	4	94	2	23,50	40.2 ± 0.6	37.2 ± 0.3	37.4 ± 0.5
OBM4	94,3	3,4	2,3	0,036	40 ± 1	36 ± 2	38.2 ± 0.4
OBM5	93,0	4,0	3	0,043	44.8 ± 0.6	43.2 ± 0.2	
OBM6	94,3	2,3	3,4	0,024	46.5 ± 0.1	43.4 ± 0.2	43.4 ± 0.4
OBM7	92,0	4,6	3,4	0,050	46 ± 2	42.9 ± 0.1	
OBM8	85,2	11,4	3,4	0,134	45 ± 2	42 ± 1	
OBM9	73,9	22,7	3,4	0,307	44.7 ± 0.1	42.5 ± 0.3	
OBM10	84,2	11,2	4,6	0,133	46.7 ± 0.7	46.2 ± 0.2	
OBM11	86,3	3,7	10	0,043	55 ± 2	52.9 ± 0.1	53.5 ± 0.9
OBM12	76,7	3,3	20	0,043	57.2 ± 0.9	55.6 ± 0.2	
OBM13	67,1	2,9	30	0,043	59.2 ± 0.1	58.9 ± 0.6	
OBM14	57,6	2,4	40	0,042	60.5 ± 0.1	60.3 ± 0.4	

Tabella 4.2: Identificazione dei campioni, composizione e rapporto burro di cacao/olio d'oliva, temperatura di gelazione, T_g, temperatura di inizio cristallizzazione in condizioni dinamiche T_{co}, e stazionarie, steady T_{co}.

Misure reologiche

E' stato studiato il comportamento reologico utilizzando un reometro a strain controllato ARES-RFS (TA Instruments, U.S.A.) dotato di una geometria a piatti paralleli ($\phi=50$ mm, gap $1\pm 0,1$ mm) e un sistema di raffreddamento con effetto Peltier ($\pm 0.1^\circ\text{C}$), che agisce sul piatto sottostante e consente un condizionamento controllato del campione. Per osservare l'evoluzione della struttura con la temperatura di tali campioni sono stati effettuati Dynamic Temperature Ramp Test (Time cure) alla frequenza di 1 Hz, in condizioni viscoelastico-lineari, raffreddando da 70°C a 20°C (per i campioni con inizio cristallizzazione inferiore sono state utilizzate temperature finali più basse). Sono stati effettuati Strain Sweep Tests preliminari a diverse temperature (tra 70°C e 20°C) per indagare le potenziali modifiche, in regime viscoelastico lineare, in funzione della temperatura. La fase oleosa fusa è stata caricata sul piatto sottostante del reometro, precedentemente portato a 70°C , e, tramite il sistema Peltier, è stata raffreddata fino alla temperatura finale con una rampa termica costante di $5^\circ\text{C}/\text{min}$. Lo strain applicato è stato modificato in accordo ai cambiamenti di temperatura, per garantire le condizioni di viscoelasticità lineare (valutati preliminarmente tramite strain sweep test a 1Hz e a differenti temperature). Tutti i campioni sono stati preparati in maniera indipendente per tre volte e i risultati sperimentali sono riportati nel lavoro in termini di valore medio e deviazione standard, tipicamente inferiore al 10%. Raramente sono state osservate variazioni maggiori (fino al 15%) sia per i dati ad alta temperatura, a causa dei limiti dello strumento (coppia minima $2\cdot 10^{-7}$ N·m), o per i dati nella regione di transizione della cristallizzazione, dovute a fenomeni di strutturazione veloce. L'insorgere della cristallizzazione in condizioni dinamiche è stata stimata come la temperatura (T_{co}) a cui era osservato un forte aumento del modulo complesso G^* (corrispondente, in molti casi, ad una forte diminuzione della tangente di sfasamento). Parallelamente è stato valutato il comportamento in flusso delle miscele oleose tramite Steady Shear Temperature Ramp Test a diverse shear rate (0.1, 1, 10, 100 s^{-1}) al variare della temperatura. Anche in questo caso la fase oleosa fusa è stata caricata sul piatto sottostante del reometro, precedentemente portato a 70°C , e, tramite il sistema Peltier, è stata raffreddata fino alla temperatura finale con una rampa termica costante di $5^\circ\text{C}/\text{min}$. L'onset della cristallizzazione in condizioni stazionarie (Steady T_{co}), che indica l'inizio della transizione in ciascun Steady Shear Temperature Ramp Test, è stato stimato come la temperatura a cui era misurato un forte cambio di pendenza nella viscosità.

4.3. Risultati e discussione

Steady Shear Temperature Ramp Test

Per investigare le caratteristiche reologiche dei grassi puri e gli effetti dei mono e digliceridi sui fenomeni di cristallizzazione nei sistemi olio d'oliva/Myverol e burro di cacao/Myverol (campioni OM e BM) e nei sistemi di olio d'oliva/burro di cacao/ Myverol (campioni OBM), sono stati condotti degli Steady Shear Temperature Ramp Test.

Come si può osservare in figura 4.3.1 relativa agli shear test effettuati sul burro di cacao puro, per tutte le velocità di taglio applicate, da 70°C fino a circa 20°C il burro di cacao si trova allo stato fuso e la viscosità aumenta solo per gli effetti cinetici.

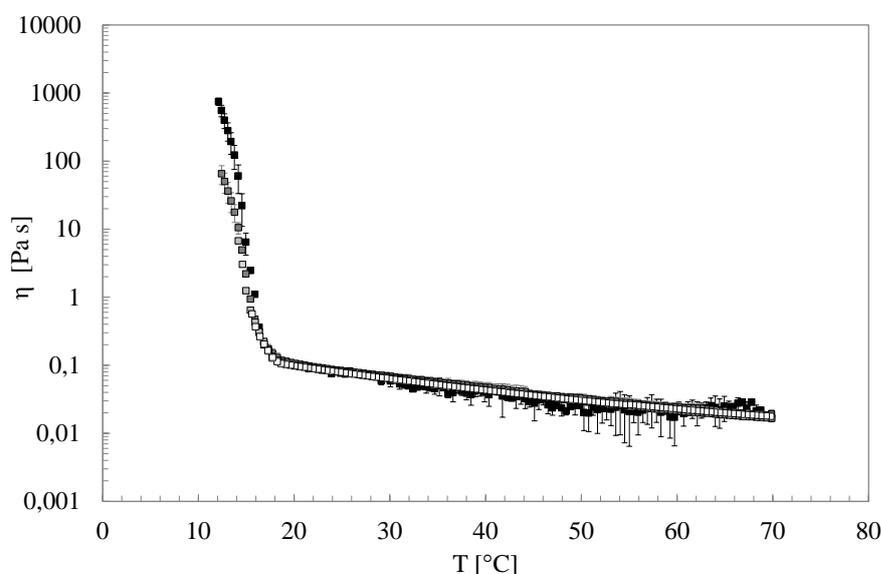


Figura 4.3.1: Steady Shear Temperature Ramp Test per il burro di cacao. Nella figura è mostrato l'andamento della viscosità con la temperatura a diverse shear rate: (simboli neri) a $0.1s^{-1}$, (simboli grigio scuro) a $1s^{-1}$, (simboli grigio chiaro) a $10s^{-1}$ e (simboli bianchi) a $100s^{-1}$.

E' inoltre evidente un forte cambiamento nella pendenza della viscosità a $20.4 \pm 0.5^{\circ}C$ dovuto alla cristallizzazione dei triacilgliceroli, presumibilmente nella forma cristallina α . Ulteriori riduzioni della temperatura fino a circa $15^{\circ}C$ non evidenziano alcun ulteriore cambiamento della pendenza. Al di sotto di questo punto, si può notare un effetto della shear sulla cristallizzazione del burro di cacao, che può essere probabilmente attribuito alla formazione di cristalli β' o β dipendente dalla shear (Mazzanti et al. 2005, 2007; Mudge e Mazzanti 2009).

In figura 4.3.2 sono riportati i risultati dell'olio d'oliva, in tal caso la velocità di taglio influenza la cristallizzazione dell'olio d'oliva e ritarda il suo onset quando sono superati certi valori soglia.

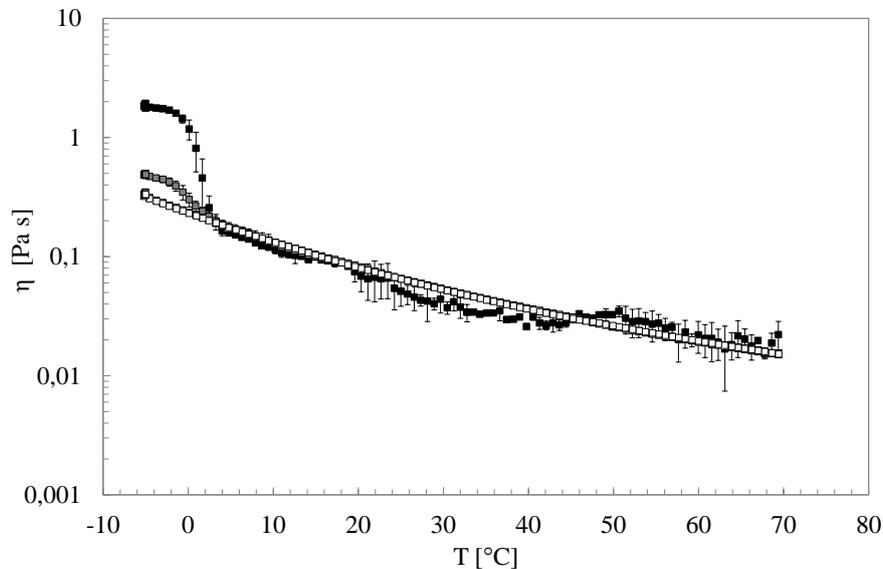


Figura 4.3.2: Steady Shear Temperature Ramp Test per l'olio d'oliva. Nella figura è mostrato l'andamento della viscosità con la temperatura a diverse shear rate: (simboli neri) a 0.1 s^{-1} , (simboli grigio scuro) a 1 s^{-1} , (simboli grigio chiaro) a 10 s^{-1} e (simboli bianchi) a 100 s^{-1} .

In questo caso l'onset della cristallizzazione è stato identificato a $4.2 \pm 0.8^\circ\text{C}$ ad una shear rate di 0.1 s^{-1} e di $4.8 \pm 0.1^\circ\text{C}$ ad una shear rate di 1 s^{-1} , mentre nessuna cristallizzazione è stata osservata nel range di temperature investigate a shear rate più alte. In questi casi, gli incrementi della viscosità possono essere ascritti solo agli effetti cinetici. È evidente che l'aumento della viscosità dell'olio d'oliva a basse temperature, dovuto alla formazione dei cristalli, è più basso di quello del burro di cacao puro. La diversa composizione in grassi delle due materie prime può giustificare questo risultato. Infatti l'olio d'oliva è una miscela di TAG di differenti acidi grassi, principalmente l'acido oleico monoinsaturo, mentre il burro di cacao è principalmente costituito da acido stearico e acido palmitico saturi. Le caratteristiche reologiche dei grassi sono date dalla struttura molecolare degli acilgliceroli: in generale i grassi contenenti in maggiore quantità acidi grassi saturi sono più viscosi o solidi, a temperatura ambiente, perché posseggono una migliore interazione molecolare e, come conseguenza, un migliore impaccamento, dando origine ad una struttura più ordinata. Al contrario, i grassi contenenti soprattutto acidi grassi insaturi (oli) sono di solito liquidi a temperatura ambiente (Ghotra et al. 2002). Di conseguenza, i fenomeni di cristallizzazione

producono incrementi maggiori di viscosità nei campioni a base di burro di cacao rispetto a quelli contenenti olio d'oliva.

Per quanto riguarda le miscele di olio d'oliva/burro di cacao, sono stati ottenuti risultati simili ai precedenti; infatti, nel range di temperature investigate, l'onset della cristallizzazione è stato osservato solo quando erano imposte basse shear rate, mentre a shear rate più alte, l'incremento della viscosità era dovuto solo ad effetti cinetici. Come esempio, si riportano i risultati del sistema olio d'oliva/Myverol (OM6) (figura 4.3.3).

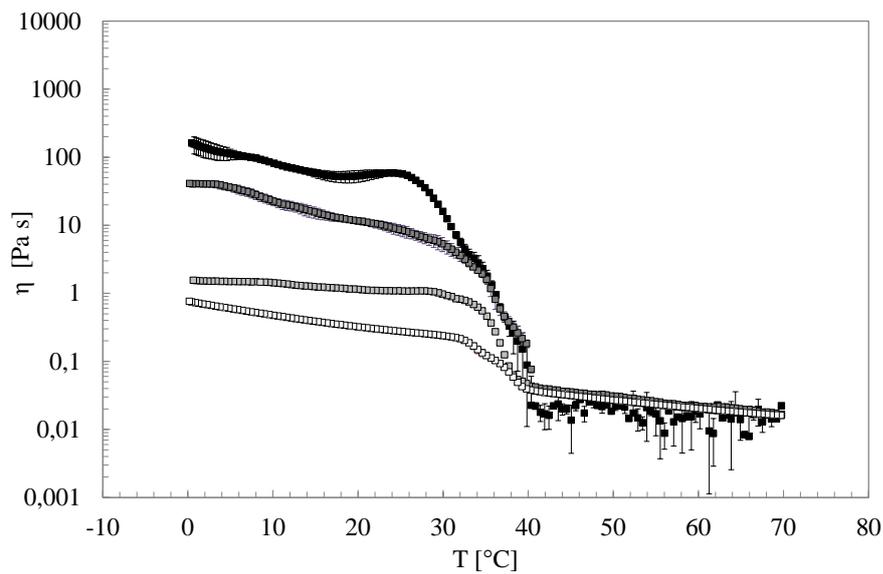


Figura 4.3.3: Steady Shear Temperature Ramp Test per il campione OM6. Nella figura è mostrato l'andamento della viscosità con la temperatura a diverse shear rate: (simboli neri) a 0.1 s^{-1} , (simboli grigio scuro) a 1 s^{-1} , (simboli grigio chiaro) a 10 s^{-1} e (simboli bianchi) a 100 s^{-1} .

Le differenti modifiche microstrutturali, dovute alle variazioni della shear rate e della temperatura, possono essere identificate per tutte le condizioni testate, anche se sono più evidenti per la curva a shear rate più bassa (0.1 s^{-1}). A temperature alte, è stato osservato un comportamento prevalentemente liquid-like indipendentemente dalla shear rate applicata. In queste condizioni, la viscosità aumenta solo a causa degli effetti cinetici. Quando la temperatura diminuisce, approssimativamente al di sotto dei 41 °C , un evidente cambiamento di pendenza della viscosità indica l'onset di prima cristallizzazione. Considerando i dati ottenuti a 0.1 s^{-1} , si notano due ulteriori cambiamenti nella pendenza ed, infine, un plateau per l'ulteriore riduzione di temperatura. Un simile comportamento è stato già descritto da Tarabukina et al. (2009) per l'olio di palma, raffreddato al di sotto di 10 °C , in condizioni costanti di shear rate, e mantenuto in condizioni isoterme per un

ulteriore periodo. Tale comportamento è stato attribuito a modifiche microstrutturali dovute a fenomeni differenti di cristallizzazione. All'onset di prima cristallizzazione, si formano cristalli (di forma α) e aggregati, aumentando in numero e dimensione durante il raffreddamento. Dopo di ciò, la cristallizzazione procede verso la nucleazione α e la successiva trasformazione polimorfica $\alpha \rightarrow \beta'$. Infine, gli aggregati di sferuliti crescono e promuovono la formazione del network in condizioni di equilibrio (Walstra et al. 2001), come effetto anche della presenza dell'organogelatore. La shear rate non influenza l'onset di prima cristallizzazione, mentre ha un effetto rilevante sulla transizione $\alpha \rightarrow \beta'$ perché a bassi valori, i cristalli α formano aggregati che ritardano l'onset della forma β' (Mazzanti et al. 2005; Tarabukina et al. 2009). I polimorfi esibiscono varie morfologie: la forma α produce una massa di cristalli molto sottili, mentre la forma β' generalmente si aggrega in cluster sferulitici o policristalli con dimensione da 10 fino a 60 μm (Narine and Marangoni 1999; Mazzanti et al. 2005). Come conseguenza, quando vengono applicati valori alti di shear rate, si può formare un piccolo numero di grandi cristalli, producendo così una viscosità minore. Infine, si può riscontrare una destrutturazione del network cristalli/organogelatore indotta dallo shear, risultante in una diminuzione del valore di viscosità.

Nel caso del campione BM2 (figura 4.3.4) (avente all'incirca la stessa composizione di OM6 ma sostituendo l'olio d'oliva con il burro di cacao), le transizioni sembrano essere ritardate a temperature più basse.

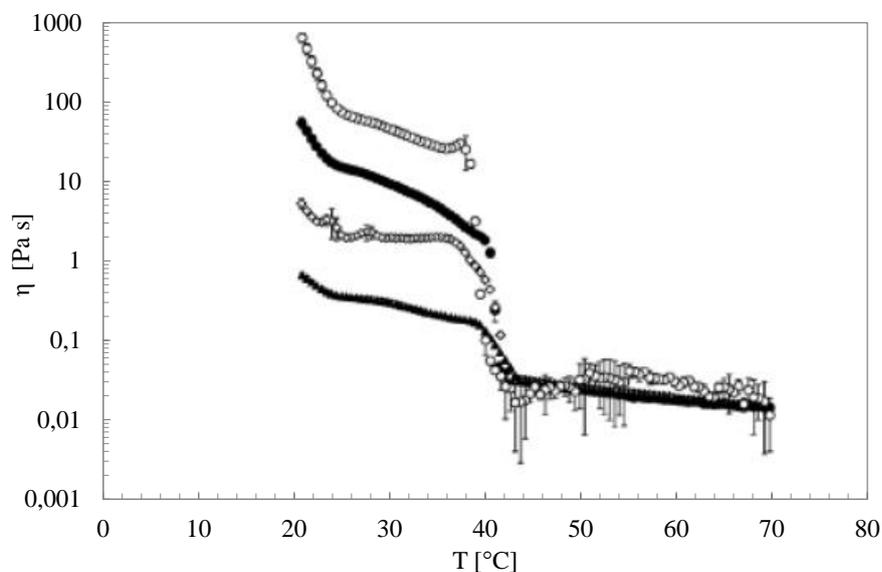


Figura 4.3.4: Steady Shear Temperature Ramp Test per il campione BM2. Nella figura è mostrato l'andamento della viscosità con la temperatura a diverse shear rate: (cerchi bianchi) a 0.1s^{-1} , (cerchineri) a 1s^{-1} , (trapezi grigio chiaro) a 10s^{-1} e (triangoli neri) a 100s^{-1} .

Infatti, la transizione polimorfica (da α a β o β in base alle condizioni usate) si verifica, a tutte le shear rate investigate, a temperature più basse (inferiori a 38°C). Inoltre, si registra anche una maggiore formazione di sferuliti. L'incremento della consistenza del campione, richiedendo valori di torque maggiori del limite superiore del reometro (torque massima di 0.1 Nm) e causando potenziali problemi di slittamento mi ha prevenuto dall'effettuare i test a temperature inferiori a 20°C .

In figura 4.3.5 sono riportati i risultati, a differenti shear rate, tipici di un sistema a tre componenti (campione OBM1).

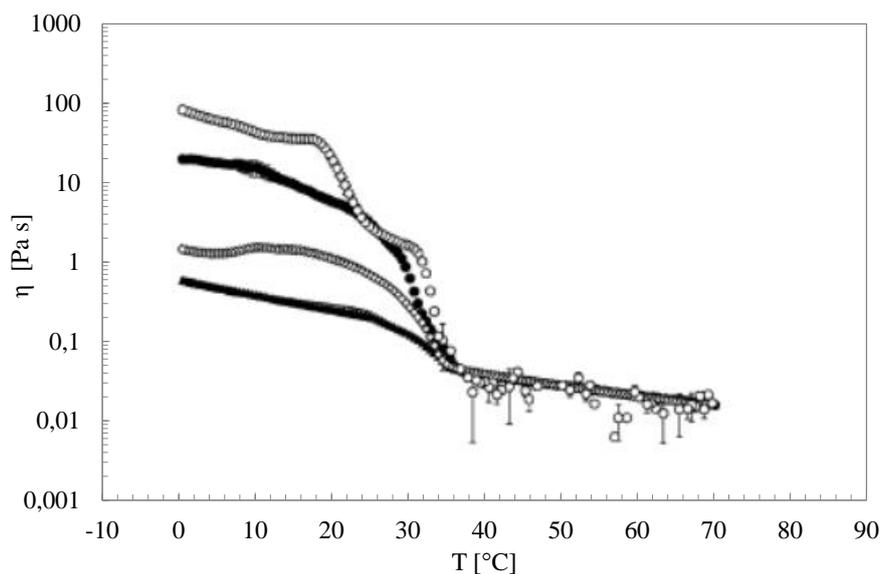


Figura 4.3.5: Steady Shear Temperature Ramp Test per il campione OBM1. Nella figura è mostrato l'andamento della viscosità con la temperatura a diverse shear rate: (cerchi bianchi) a 0.1s^{-1} , (cerchineri) a 1s^{-1} , (trapezi grigio chiaro) a 10s^{-1} e (triangoli neri) a 100s^{-1} .

Anche in questo caso, analizzando la viscosità in funzione della temperatura, possono essere identificate diverse transizioni cristalline. Ad alte temperature vi è un prevalente comportamento liquid-like, inoltre tutte le curve si sovrappongono. Quando la temperatura diminuisce al di sotto della temperatura di cristallizzazione ($38.2\pm 0.9^\circ\text{C}$), si osserva l'onset di prima cristallizzazione, dato dalla presenza del Myverol che agisce come un organogelatore. Le stesse modifiche microstrutturali già descritte per gli altri sistemi possono essere identificate per i campioni con tre componenti e ancora, più bassa è la shear rate più alta è la viscosità.

Rispetto ai grassi puri (campioni B e O) e miscelati (campioni OB), la presenza degli organogelatori influenza in maniera evidente la prima temperatura di cristallizzazione e modifica la dipendenza del suo onset dalla shear rate. E' interessante notare inoltre, che i

mono e i digliceridi influenzano notevolmente i fenomeni di cristallizzazione, promuovendo le transizioni strutturali, non presenti quando sono considerati i grassi puri, e contribuendo alla produzione di un network gelificato debole che intrappola una fase liquida e una frazione cristallina. Il burro di cacao puro e i campioni contenenti Myverol (campioni OM o BM) mostrano una transizione, che indica l'onset di gelificazione/cristallizzazione, ad una data temperatura, indipendentemente dalla shear rate applicata, mentre l'olio d'oliva puro e le miscele di grassi (campioni OB) non cristallizzano se non vengono applicati bassi valori di shear rate. Inoltre le basse shear rate promuovono la formazione di network tridimensionali, producendo valori maggiori della viscosità finale.

Dynamic Temperature Ramp Test

Parallelamente a ciò, sono stati utilizzati i Dynamic Temperature Ramp Test allo scopo di studiare i fenomeni di cristallizzazione e le proprietà reologiche macroscopiche dei grassi puri e miscelati (campioni OB), e gli effetti del Myverol sulle diverse fasi oleose (campioni OM, BM e OBM). In figura 4.3.6 è mostrato il modulo complesso e la tangente di sfasamento del burro di cacao puro (campione B), durante un temperature ramp test.

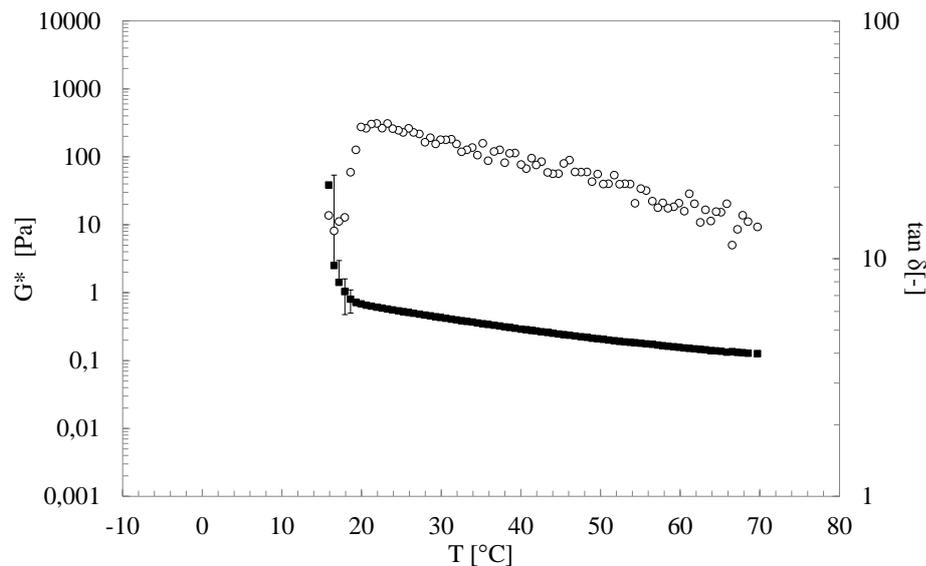


Figura 4.3.6: Time Cure test per il burro di cacao. Nella figura è mostrato l'andamento di G^* (simboli pieni) e $\tan(\delta)$ (simboli vuoti) con la temperatura.

A valori alti di temperatura, il burro di cacao è nella fase fusa ed appare come un grasso liquid-like, come si vede dal valore della $\tan(\delta)$ (cioè il rapporto tra il modulo viscoso e quello elastico) sempre maggiore di uno. G^* aumenta con il diminuire della temperatura soltanto per effetti cinetici al di sotto della temperatura di inizio cristallizzazione, a 20.3 ± 0.1 °C. A questo valore si osserva un forte cambio di pendenza, sia per il modulo complesso che per la $\tan(\delta)$, dovuto alla potenziale cristallizzazione dei trigliceridi nella forma cristallina α (Schenk e Peschar, 2004).

Come è possibile osservare dal time cure test del campione OB1 (campione olio d'oliva/burro di cacao con rapporto B/O pari a 0.134), la transizione tra lo stato fuso e la fase cristallina sembra essere più "dolce" se comparata con il burro di cacao puro, essendo il cambio di pendenza meno forte (figura 4.3.7).

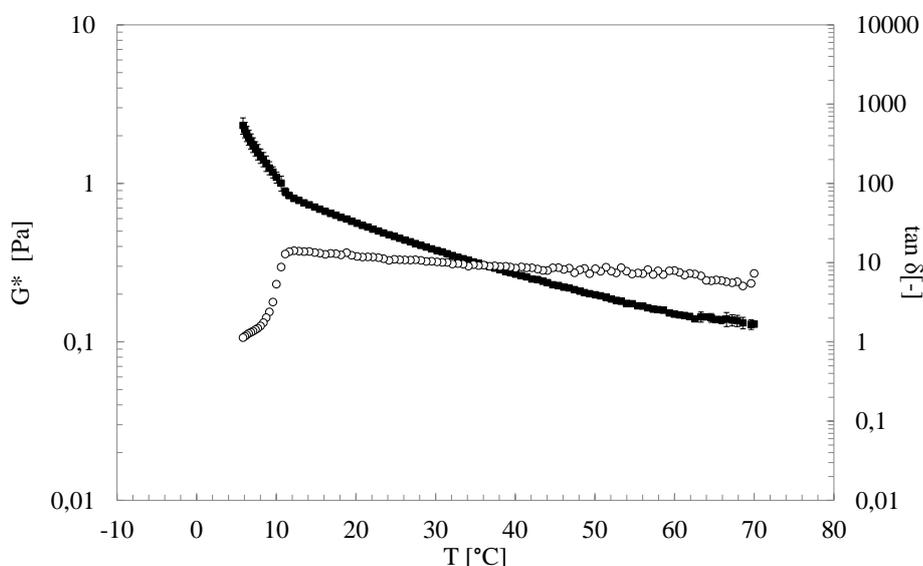


Figura 4.3.7: Time Cure test per il campione OB1. Nella figura è mostrato l'andamento di G^* (simboli pieni) e $\tan(\delta)$ (simboli vuoti) con la temperatura.

Inoltre, la temperatura di cristallizzazione del burro di cacao puro è chiaramente ridotta dalla presenza, nella miscela di grassi, di un grosso quantitativo di olio d'oliva (ricco in componenti insaturi), evidenziando che la temperatura di transizione è influenzata dal quantitativo di grassi saturi. Ciò è in accordo con i risultati precedentemente ottenuti tramite gli steady shear test, sulla temperatura di transizione della fase oleosa composta da grassi puri (olio d'oliva o burro di cacao) o dalla loro miscela (campioni OB).

La figura 4.3.8 mostra i time cure test realizzati sui campioni preparati con l'olio d'oliva (OM3) e il burro di cacao (BM1) miscelati con la stessa quantità di Myverol (1%_{w/w}).

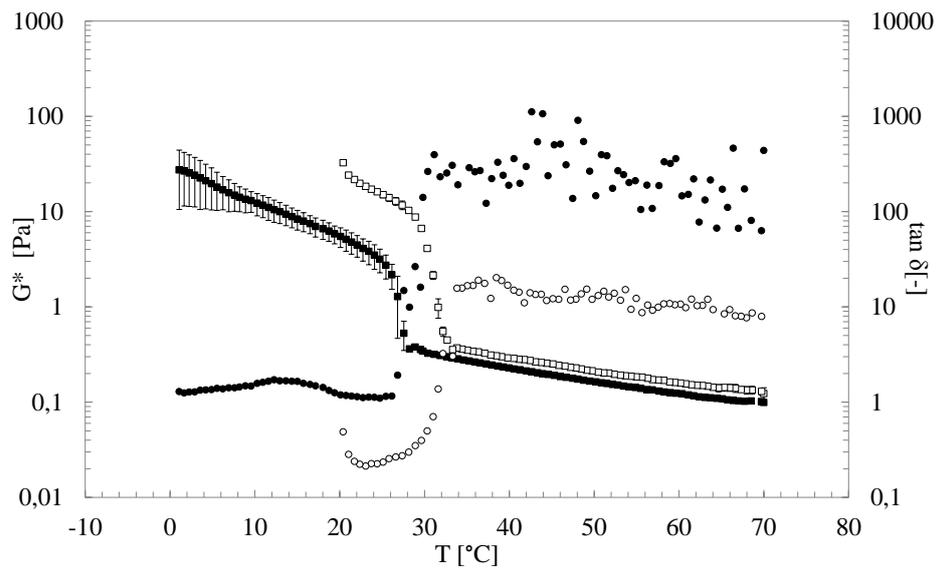


Figura 4.3.8: Time Cure test alla frequenza di 1 Hz per i campioni OM3 (simboli neri) e BM1 (simboli bianchi). Nella figura è mostrato l'andamento di G^* (quadrati) e $\tan(\delta)$ (cerchi) con la temperatura.

Le curve di G^* e di $\tan(\delta)$ sono diverse per entrambi i campioni nell'intera regione di temperatura considerata. La fase oleosa fusa appare più elastica (come evidenziato dal valore inferiore di $\tan(\delta)$ esibito dal campione BM1 rispetto al campione OM3) ed è inoltre possibile osservare un crossover tra i moduli dinamici (indicato dalla $\tan(\delta)$ uguale all'unità) quando il principale costituente è il burro di cacao puro. Come conseguenza del diverso comportamento, è possibile notare che l'insorgere della cristallizzazione avviene ad una temperatura significativamente diversa ($p < 0.05$): ossia a $35,4 \pm 0,3$ °C per il campione BM1 e a $30,4 \pm 0,8$ °C per il campione OM3.

Di seguito sono diagrammate le curve del modulo complesso e della tangente di sfasamento in funzione della temperatura relative ai campioni BM2 e OM5 (figura 4.3.9).

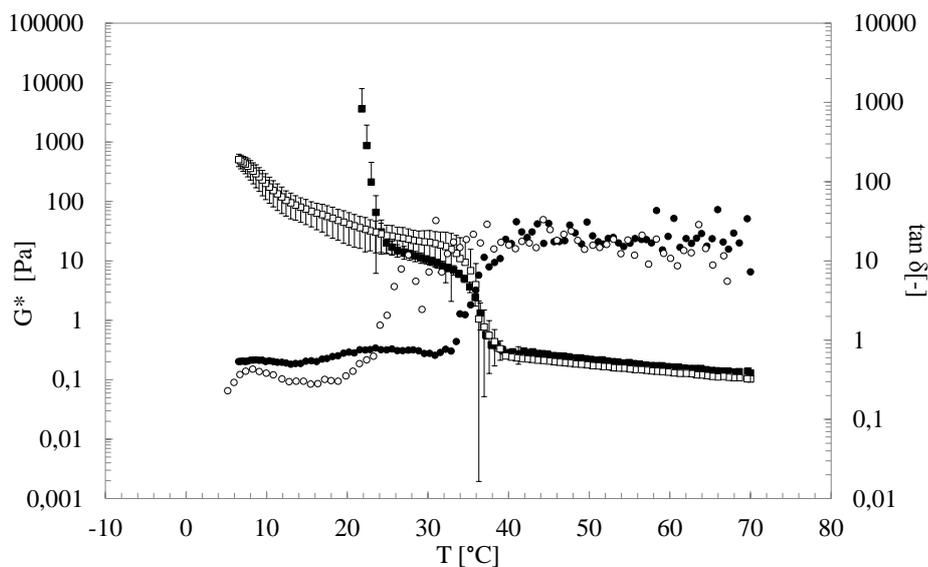


Figura 4.3.9: Time Cure test alla frequenza di 1 Hz per i campioni OM5 (simboli bianchi) e BM2 (simboli neri). Nella figura è mostrato l'andamento di G^* (quadrati) e $\tan(\delta)$ (cerchi) con la temperatura.

In questo caso, se la quantità totale di Myverol viene aumentata (dall'1%_{w/w} al 2%_{w/w} nei campioni BM2 e OM5) si può osservare un comportamento differente e T_{co} è influenzata soltanto dal contenuto di Myverol, indipendentemente da quale sia il grasso in cui è sciolto l'organogelatore. Inoltre, per entrambi i campioni la reologia della fase olio è più simile, fin quando si raggiunge la temperatura di circa 26°C. Per valori inferiori di temperatura, il campione BM2 diventa più consistente e strutturato rispetto al campione OM5, si verifica anche una seconda variazione di pendenza, che indica una seconda regione di transizione, a causa del maggiore contenuto di grassi saturi, nel burro di cacao rispetto all'olio d'oliva, che a temperature più basse conferisce durezza ed elasticità alla fase oleosa. I cambi di pendenza nelle curve di G^* possono essere spiegati considerando la cristallizzazione dei grassi nelle differenti forme cristalline polimorfiche (Tarabukina et al., 2009).

L'effetto sull'olio d'oliva di piccoli quantitativi di Myverol è stato ulteriormente studiato valutando le caratteristiche di campioni (OM1-6) realizzati aumentando leggermente la concentrazione di emulsionante (dallo 0,1% al 3%_{w/w}). In particolare, nelle figure 4.3.10a e 4.3.10b è mostrato il grafico di confronto, in termini di modulo complesso e tangente di sfasamento, per tali sistemi, costituiti da olio d'oliva e Myverol (campioni OM1-6).

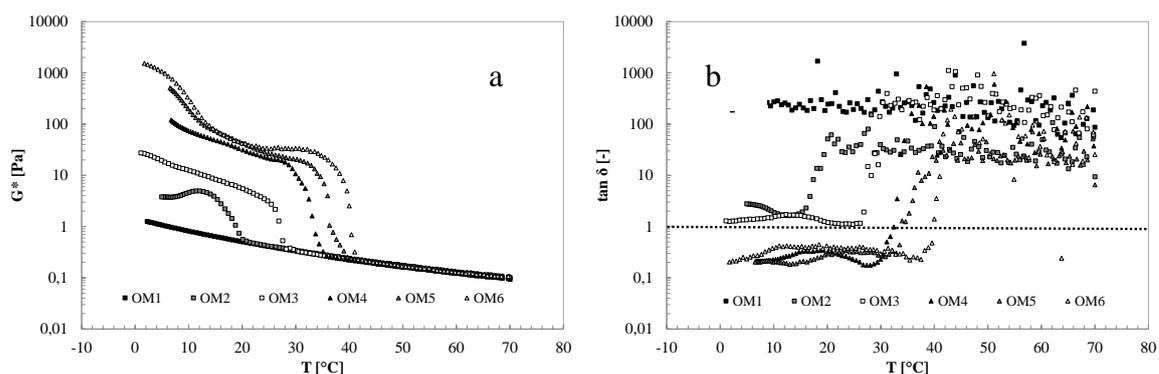


Figura 4.3.10: Time Cure test alla frequenza di 1 Hz per i campioni OM1-6. Nelle figure sono mostrati l'andamento del modulo complesso (Fig.a) e della tangente di sfasamento (Fig.b) con la temperatura.

Con l'aumento della concentrazione di Myverol, alle basse temperature è possibile osservare valori del modulo complesso G^* più alti, inoltre sempre all'aumentare del contenuto di Myverol, si nota che la pendenza delle curve di G^* aumenta a temperature più alte, indicando che l'onset di prima cristallizzazione è anticipato verso valori di temperatura più elevati, mentre, alle concentrazioni minori di Myverol ($0.1\%_{w/w}$), non è possibile osservare il fenomeno della cristallizzazione. Per tutti i campioni esaminati, i punti delle $\tan(\delta)$ alle alte temperature appaiono sparpagliati, a causa della ridotta risoluzione strumentale a valori di angolo di fase molto alti, ma è possibile osservare un andamento più regolare avvicinandosi alla zona di inizio cristallizzazione, dove appare una rapida diminuzione della tangente di sfasamento. Quando $\tan(\delta)=1$, si può vedere il crossover tra il modulo di perdita e quello di accumulo, che identifica la temperatura di gelificazione T_g . Il crossover può essere osservato soltanto se l'ammontare di Myverol è maggiore dell'intervallo critico di concentrazione tra 1% e $1.5\%_{w/w}$. A basse concentrazioni di Myverol ($<1.5\%_{w/w}$), i fenomeni della cristallizzazione e della gelificazione sono influenzati dalla composizione della fase oleosa e sono promossi da un maggiore contenuto di grassi saturi. Per tale ragione, sono state riscontrate differenze significative nella temperatura di inizio cristallizzazione per i campioni preparati con meno del 2% di Myverol, in accordo con la composizione della fase oleosa.

Per quanto attiene i risultati tipici di sistemi a tre composti (campioni OBM8 e OBM9), in figura 4.3.11 è riportato il grafico del Time Cure Test alla frequenza di 1 Hz.

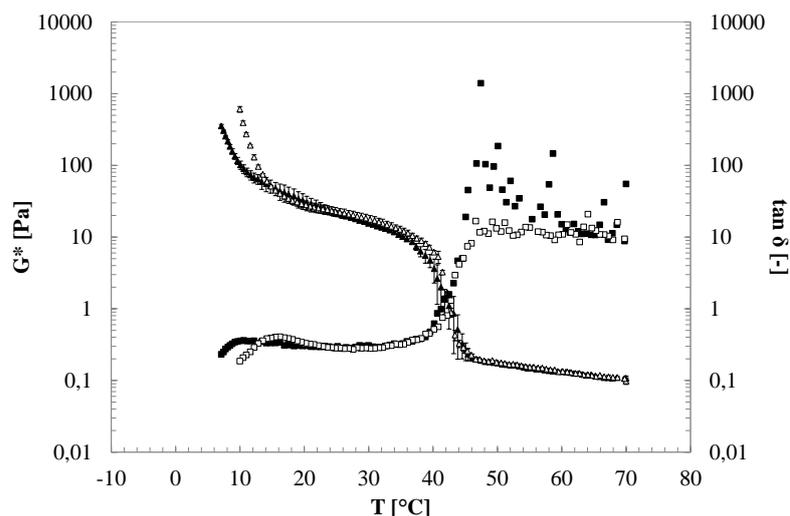


Figura 4.3.11: Time Cure test alla frequenza di 1 Hz per i campioni OBM8 (simboli neri) e OBM9 (simboli bianchi). Nella figura è mostrato l'andamento del modulo complesso (triangoli) e della tangente di sfasamento (quadrati) con la temperatura.

Come si può osservare, le curve di entrambi i campioni hanno un andamento simile, portando quindi alle stesse temperature critiche; si può notare una differenza rilevante soltanto alle basse temperature (minori di 16°C) a cui, a causa del diverso contenuto in grassi saturi, sono evidenziati valori maggiori di G^* per il campione OBM9.

La temperatura di inizio cristallizzazione è riportata in figura 4.3.12 per tutti i campioni investigati, per evidenziare meglio che tale parametro è indipendente dalla composizione della fase oleosa, quando la concentrazione di organogel è maggiore dell'intervallo tra 2% e 3%_{w/w}.

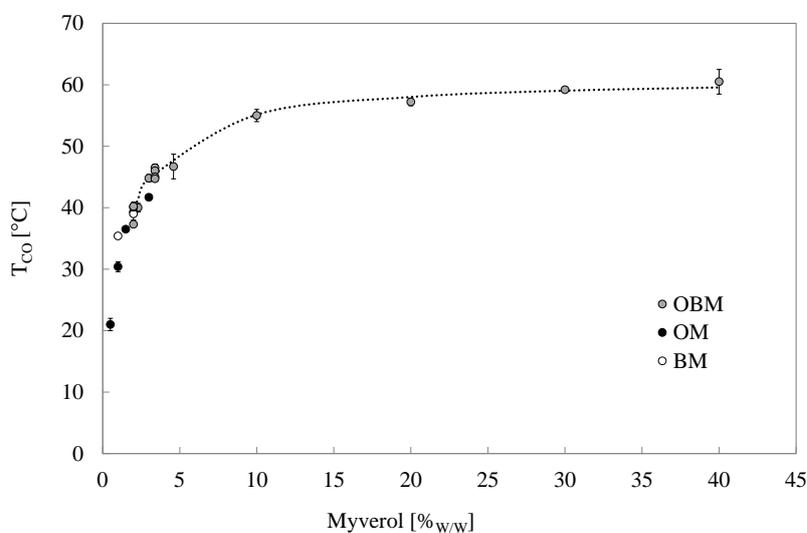


Figura 4.3.12: Temperatura di inizio cristallizzazione (T_{co}) dei campioni in funzione della percentuale in peso di Myverol. Dati sperimentali (simboli) ed interpolazione dei dati (linea tratteggiata) secondo il modello empirico corrispondente all'equazione 4.1.

Ad alte concentrazioni di Myverol, T_{co} presenta un andamento asintotico in funzione del contenuto di Myverol, ciò suggerisce un effetto di saturazione. La relazione esistente tra T_{co} e la frazione di Myverol, χ_M , nell'intervallo di concentrazione investigato ($0.02 \leq \chi_M \leq 0.4$), può essere data dall'equazione empirica:

$$T_{co}(\chi_M) = \frac{A \cdot \chi_M}{B + \chi_M} \quad [4.1]$$

dove $A=61.2 \pm 0.7$ ($^{\circ}\text{C}$) e $B=0.011 \pm 0.001$ (adimensionale). Più in dettaglio, sono stati analizzati gli effetti del Myverol sulle proprietà reologiche del gel per i campioni che avevano un rapporto burro di cacao/olio d'oliva costante (pari a 0.043), allo scopo di capire meglio il reale contributo dell'organogelatore. I parametri reologici sono stati analizzati almeno a 5°C al di sotto della temperatura di inizio cristallizzazione, e comunque lontano dall'iniziale rapida transizione (dove i dati sperimentali erano influenzati da una deviazione standard elevata), per consentire una significativa presenza di cristalli. I dati sono riportati a valori di temperatura di T_5 , T_{10} e T_{15} , dove $T_5 = T_{co} - \Delta T$, $T_{10} = T_{co} - 2\Delta T$, $T_{15} = T_{co} - 3\Delta T$ e $\Delta T = 5^{\circ}\text{C}$. Per tale motivo, il modulo complesso (figura 4.3.13a) e la tangente di sfasamento (figura 4.3.13b) sono stati diagrammati come funzioni della temperatura, alle suddette tre diverse temperature.

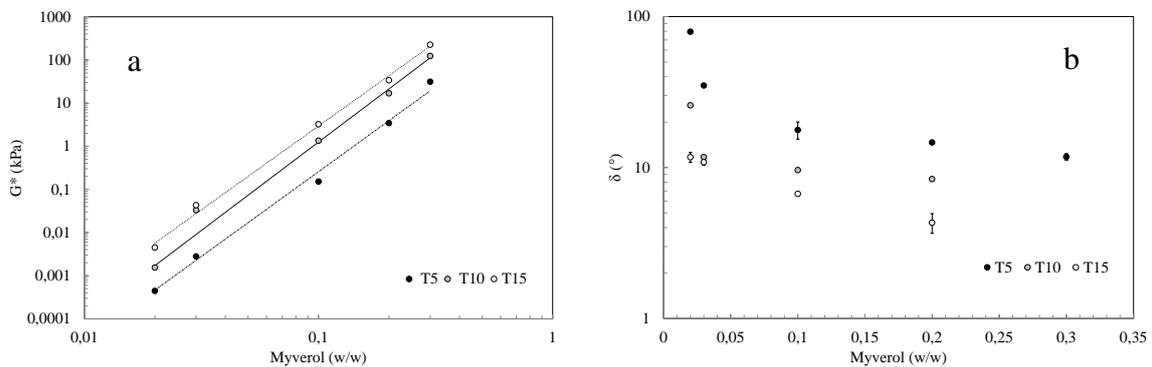


Figura 4.3.13: Modulo complesso (a) e angolo di fase (b) della frazione ponderale di Myverol con un rapporto B/O pari a 0.043. Dati sperimentali (simboli) ed interpolazione dei dati (linea tratteggiata) secondo il modello empirico corrispondente all'equazione 4.2.

Tali dati evidenziano che, per tutte le temperature investigate, G^* aumenta in maniera non lineare con la frazione di Myverol (così come trovato anche da Ojijo et al., 2004). Il modulo complesso sembra essere spostato a valori più alti quando la distanza tra l'inizio cristallizzazione diviene maggiore (aumentando la differenza di temperatura). I dati

sperimentali possono essere ben rappresentati da un modello lineare empirico in un diagramma log-log:

$$\ln[G^*(T, 1\text{Hz}, \chi_M)] = C[\Delta T] + D[\Delta T] \cdot \ln[\chi_M] \quad [4.2]$$

e i parametri ottenuti sembrano confermare un leggero spostamento verticale dei valori sperimentali durante l'aumento della distanza dall'onset di cristallizzazione (parametro C nella tabella 4.3), mentre le pendenze delle curve sono approssimativamente costanti (parametro D nella tabella 4.3).

ΔT (°C)	C (-)	D (-)	r^2 (-)
5	14.6±0.3	3.9±0.2	0.993
10	16.5±0.5	4.1±0.2	0.979
15	16.9±0.2	3.9±0.1	0.995

Tabella 4.3: Parametri dell'equazione 4.2.

Le curve dell'angolo di fase (δ) mostrano una diminuzione non lineare con l'aumento del quantitativo di Myverol, come riportato in figura 4.3.13b. Ciò conferma una progressiva strutturazione dell'organogel all'aumentare sia del contenuto di Myverol che della distanza dall'inizio della cristallizzazione. Quando è usata la più alta frazione di Myverol (cioè 0.3 w/w), si ottiene un network cristallino molto strutturato, lontano dall'onset della cristallizzazione (cioè a T_{10} e T_{15}) e l'angolo di fase diventa minore dei limiti strumentali; inoltre viene misurato apparentemente un valore zero per la $\tan(\delta)$ (in base all'accuratezza dello strumento), evidenziando un forte comportamento solido dei materiali contenuti. Gli angoli di fase ottenuti, essendo zero, non sono riportati nel grafico semilogaritmico riportato in figura 4.3.13b.

Nel caso dei campioni preparati con un quantitativo costante di Myverol pari a 3.4%_{w/w} (campioni OBM6-OBM9), è stato studiato l'effetto del rapporto B/O sul G^* (figura 4.3.14a) e δ (figura 4.3.14b) a T_5 , T_{10} , T_{15} e T_{30} (dove $T_{30} = T_{co} - 6\Delta T$). Per questi campioni non sono state osservate differenze significative nei valori di T_{co} , per cui è stata scelta come riferimento una temperatura media di 44.8±0.9°C, per valutare T_5 , T_{10} e T_{15} e T_{30} .

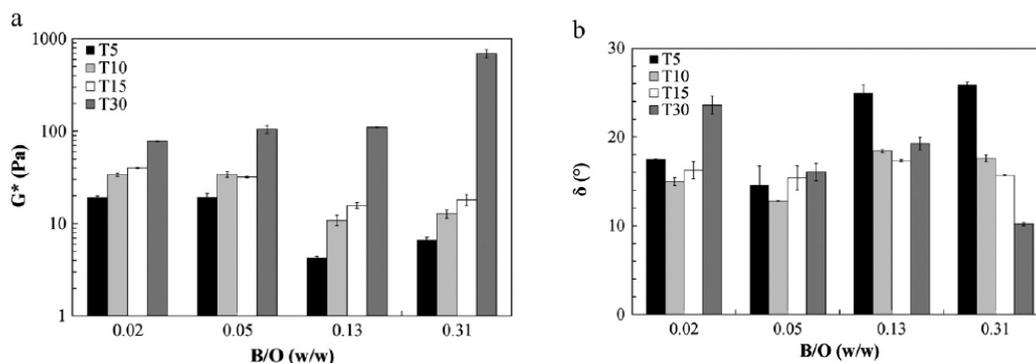


Figura 4.3.14: Confronto del modulo complesso (a) e dell'angolo di fase (b) in funzione del rapporto Burro di cacao/Olio di oliva (B/O) a frazione ponderale di Myverol (0,034).

Quando sono presi in considerazione i dati al di sotto di T_{15} (che è 15°C più bassa dell'onset di cristallizzazione), sembra che, per rapporti di B/O fino a 0.05, sia il modulo complesso che l'angolo di fase non siano influenzati dalla frazione di burro di cacao; aumentando il rapporto B/O si evidenzia una diminuzione del valore G^* , seguito da un lieve incremento successivo. Questo andamento non-monotono potrebbe essere attribuito al Myverol che agisce come organogelatore in cooperazione con i grassi nella fase liquida oleosa, soprattutto con i grassi saturi. Probabilmente la quantità di Myverol adottata ($3.4\%_{w/w}$) non è sufficiente a promuovere la formazione rapida del gel (considerando anche la rampa di temperatura veloce adottata), quando viene aumentato il contenuto del burro di cacao, come confermato dall'incremento del valore dell'angolo di fase a rapporti di B/O maggiori di 0.05 (evidenziando un sistema con comportamento più da liquido). Un ulteriore aumento del contenuto di burro di cacao porta ad una consistenza maggiore, a causa del maggior quantitativo di grassi saturi e, di conseguenza, una possibile frazione maggiore di solido, senza influenzare l'estensione del network, come può essere notato dal valore invariato dell'angolo di fase. D'altro canto, quando i parametri reologici sono considerati ad una temperatura di 30°C minore dell'onset di cristallizzazione (T_{30}), è osservato un andamento differente. Sia il modulo complesso che l'angolo di fase sono quasi costanti con il rapporto B/O fino a 0.13 (eccetto per un leggero cambiamento iniziale a 0.05), mentre si osserva un cambiamento rilevante quando il rapporto B/O è aumentato fino a 0.31: il modulo complesso aumenta di circa un ordine di grandezza, mentre l'angolo di fase diminuisce di un fattore approssimativamente pari a 2, formando un network più consistente e strutturato. Tuttavia, anche se la gelificazione è piuttosto lenta per la concentrazione di Myverol considerata, quando si ha più tempo a disposizione, si ottiene un materiale più strutturato, a mano a mano che aumenta il rapporto B/O. Questo risultato

conferma che il burro di cacao contribuisce sia alla consistenza che alla strutturazione del network, anche se potrebbe essere necessaria una sorta di tempo “annealing” per raggiungere i moduli finali di equilibrio.

Sono stati ottenuti risultati interessanti paragonando le temperature di inizio cristallizzazione ottenute tramite test dinamici e test steady shear: i valori di T_{co} ottenuti in condizioni cinematiche diverse, erano più vicine tra loro all'aumentare del contenuto di Myverol e non c'erano differenze significative a partire dal 3%_{w/w}. Inoltre, quando si raggiungeva un valore critico di concentrazione (approssimativamente in un intervallo tra il 2% e il 3%_{w/w}), i fenomeni di cristallizzazione e di gelificazione dipendevano soltanto dal contenuto di Myverol ed erano indipendenti da altri fattori, come la composizione della fase oleosa o le condizioni cinematiche.

In particolare i risultati dei test dinamici effettuati sui suddetti campioni, contenenti i grassi puri (olio d'oliva o burro di cacao) o le loro miscele (campioni OB), oltre che sui sistemi a due e tre componenti, sono stati oggetto di pubblicazione su una rivista internazionale.

CONCLUSIONI

Nel presente lavoro di dottorato sono stati preparati organogel a base di olio d'oliva, impiegando un emulsionante commerciale (Myverol 18-04K), composto da mono e digliceridi, e un piccolo quantitativo di burro di cacao, per analizzare le loro applicazioni potenziali nella strutturazione della fase oleosa di emulsioni W/O. In particolare è stato investigato il ruolo del burro di cacao (fonte naturale di grassi liberi da acidi grassi di tipo trans e che contiene alcuni dei trigliceridi già presenti nell'olio di oliva.), che ha un effetto neutrale sui livelli di colesterolo (Salas et al. 2011), ed il contenuto di mono e digliceridi degli acidi grassi (che si comportano da organogelatori) sui fenomeni di gelazione dell'olio d'oliva, grasso salubre, ricco in acido oleico insaturo.

Il proposito di questo lavoro è stato quindi lo studio della fase continua di un'emulsione W/O strutturata, per ottenere un grasso vegetale, con un'elevata frazione di olio d'oliva, ossia salutare, che presentasse le proprietà meccaniche richieste ad una margarina commerciale. La prima parte della fase sperimentale è stata svolta presso l'Università di Huelva (Spagna), dove, inizialmente, è stata studiata la fase oleosa non emulsionata, per comprendere il processo di cristallizzazione dei grassi complessi. Successivamente, è stato analizzato l'effetto della metodica di preparazione e della quantità totale di burro di cacao sulle caratteristiche reologiche delle emulsioni finali, trovando interessanti conclusioni. In particolare, per ottenere delle proprietà reologiche simili a quelle di un grasso commerciale da me caratterizzato, è stato individuato, per la produzione del nuovo grasso, un intervallo tra 10 e 20%_{w/w} di burro di cacao, da aggiungere alla fase oleosa. Infatti, una frazione di burro di cacao leggermente superiore al 10%_{w/w} sembra essere sufficiente a produrre un sostituto della margarina, garantendo così una bassa quantità totale di grassi aggiunti rispetto alle margarine utilizzate nella produzione di pasticceria.

Il raffreddamento repentino è risultato essere la fase critica della preparazione della fase grassa cristallina svolta presso il laboratorio del prof. C. Gallegos presso il Departamento de Ingeniería Química, Química Física y Química Orgánica, dell'Universidad de Huelva. Alla luce delle difficoltà dovute alla criticità della preparazione dalla fase grassa cristallina, si è inteso continuare lo studio della fase oleosa cristallina condizionandola sul reometro, dotato di un sistema di raffreddamento di tipo Peltier per avere un condizionamento controllato del campione, disponibile presso il Laboratorio di Reologia ed Ingegneria

Alimentare (La.RIA) dell'Università della Calabria, dove è proseguita e si è conclusa la fase sperimentale. I campioni sono stati preparati usando olio vergine d'oliva commerciale, burro di cacao, mono e digliceridi di acidi grassi (Myverol), variandone il rapporto. La fase oleosa fusa è stata caricata sul piatto sottostante del reometro, precedentemente portato a 70°C, e, tramite il sistema Peltier, è stata raffreddata fino alla temperatura finale con una rampa termica costante di 5 °C/min. In primo luogo, allo scopo di capire meglio quale fosse il ruolo dell'organogel e del burro di cacao nei fenomeni di cristallizzazione e quali fossero i loro effetti sulle proprietà reologiche macroscopiche alle condizioni di equilibrio, sono stati effettuati Dynamic Temperature Ramp Test alla frequenza di 1 Hz, in condizioni viscoelastico-lineari, valutando il modulo complesso e la tangente dello sfasamento in funzione della temperatura, alle stesse condizioni usate per lo Steady Shear Temperature Ramp Test. Sono stati effettuati Strain Sweep Tests preliminari a diverse temperature (tra 70°C e 20°C) per indagare le potenziali modifiche, in regime viscoelastico lineare. Parallelamente, è stato valutato il comportamento in flusso delle miscele oleose tramite Steady Shear Temperature Ramp Tests a diverse shear rates (0.1, 1, 10, 100 s⁻¹) raffreddando da circa 70°C a 20°C.

Tramite gli Steady Shear Temperature Ramp Test è stato possibile provare che per il burro di cacao e per tutti i campioni prodotti con il Myverol (a qualsiasi contenuto di Myverol), la Steady T_{co} è risultata essere indipendente dalla shear rate applicata. L'olio d'oliva e le miscele di grassi cristallizzavano solo alle basse shear rate e comunque a differenti temperature, in base alla shear rate applicata; inoltre l'inizio della transizione dalla miscela liquida al materiale cristallizzato era molto più "dolce" rispetto al burro di cacao. Inoltre i fenomeni di cristallizzazione producevano incrementi maggiori di viscosità nei campioni a base di burro di cacao rispetto a quelli contenenti olio d'oliva. Analizzando la viscosità dei campioni OM, BM e OBM, in funzione della temperatura, è stato possibile osservare differenti modifiche microstrutturali, identificate da diverse transizioni cristalline. A temperature alte, era possibile osservare un comportamento prevalentemente liquid-like indipendentemente dalla shear rate applicata; in queste condizioni, la viscosità aumentava solo a causa degli effetti cinetici. Quando la temperatura diminuiva, era evidente un cambiamento di pendenza della viscosità, che indica l'onset di prima cristallizzazione, si formavano cristalli di forma α e aggregati, aumentando in numero e dimensione durante il raffreddamento. Dopo di ciò si potevano notare due ulteriori cambiamenti nella pendenza, corrispondente al procedere della cristallizzazione verso la nucleazione α e la successiva

trasformazione polimorfica $\alpha \rightarrow \beta'$; ed, infine, per l'ulteriore riduzione di temperatura, un plateau corrispondente alla formazione di aggregati di sferuliti che crescevano e promuovevano la formazione del network in condizioni di equilibrio (Walstra et al. 2001), come effetto anche della presenza dell'organogelatore. E' interessante notare che, rispetto ai grassi puri (campioni B e O) e miscelati (campioni OB), la presenza degli organogelatori influenzava in maniera evidente la prima temperatura di cristallizzazione e modificava la dipendenza del suo onset dalla shear rate. I mono e i digliceridi, quindi, influenzavano notevolmente i fenomeni di cristallizzazione, promuovendo le transizioni strutturali, non presenti quando si considerano i grassi puri, e contribuendo alla produzione di un network gelificato debole che intrappola la fase liquida e la frazione cristallina. I valori delle temperature hanno rivelato che, indipendentemente dal grasso puro o dalla miscela grassa adottati, la Steady T_{co} dipendeva esclusivamente dal contenuto in mono e digliceridi. La viscosità di tutti i campioni seguiva un andamento simile, se venivano confrontati campioni con lo stesso quantitativo di Myverol, mentre la consistenza finale, che aumentava quando erano adottati grassi saturi, era influenzata dalla composizione della fase grassa. Infine shear rate basse promuovevano la formazione di un network tridimensionale, portando a valori maggiori di viscosità finale.

Nel caso dei Dynamic Temperature Ramp Test è stato possibile dimostrare che il modulo complesso del burro di cacao, al diminuire della temperatura, aumentava soltanto per effetti cinetici, fino alla temperatura di inizio cristallizzazione, quando era evidente un cambiamento di pendenza della curva, dovuto alla formazione di cristalli di forma α (Schenk e Peschar, 2004). Per le miscele di grassi (campioni OB), era possibile identificare la stessa transizione cristallina, ma il cambio di pendenza era meno forte, e la temperatura di cristallizzazione del burro di cacao puro veniva ridotta dalla presenza, dell'olio d'oliva nella miscela. Come per gli steady shear test, anche in questo caso la temperatura di transizione era influenzata dal quantitativo di grassi saturi nel campione (rapporto burro di cacao/olio d'oliva). Se venivano messi a confronto i campioni, la cui fase oleosa era l'olio d'oliva (campioni OM), con quelli in cui la fase oleosa era il burro di cacao (campioni BM), i dati sperimentali mostravano un comportamento diverso. Infatti, confrontando due campioni a fissato quantitativo di Myverol, ma variando il grasso in cui era disciolto l'organogelatore, sia il modulo complesso che la $\tan(\delta)$ variavano per l'intero range: le T_{co} erano diverse, per il campione BM la fase fusa appariva più elastica ed era possibile osservare un crossover tra i moduli dinamici. Se veniva aumentato il contenuto di Myverol,

però, la T_{co} non sembrava essere influenzata dal grasso in cui era sciolto l'organogelatore, ma soltanto dal quantitativo di Myverol. È importante notare inoltre che i risultati ottenuti dipendono sia dall'intervallo di temperatura investigato che dalla rampa termica adottata; infatti, a causa delle cinetiche di cristallizzazione, cambiando le condizioni operative potrebbero essere ottenuti risultati differenti. I dati sperimentali hanno evidenziato anche che, a basse concentrazioni di Myverol ($<1.5\%_{w/w}$), i fenomeni della cristallizzazione e della gelificazione erano influenzati dalla composizione della fase oleosa e promossi da un maggiore contenuto di grassi saturi. La fase oleosa, alle condizioni operative adottate, si presentava come una sospensione "slegata" di cristalli grassi in un olio liquido, mentre a quantitativi maggiori si aveva un aumento di un network debolmente strutturato, basato sulle interazioni tra i cristalli di grasso e gli aggregati. Probabilmente, a queste basse concentrazioni, il Myverol poteva realizzare più facilmente la cristallizzazione di molecole sature (che permettono migliori interazioni intermolecolari e un miglior impaccamento), formando un sistema strutturato a temperature superiori di quelle osservate per il grasso puro. Contrariamente a ciò, il numero di cristalli ottenuti dall'olio d'oliva non era sufficiente per formare un network tridimensionale (per lo meno nella finestra di tempi e temperature considerati). Per i dati relativi alle fasi oleose a tre componenti (campioni OBM), con un quantitativo di Myverol maggiore del $2\%_{w/w}$ le temperature T_{co} e T_g erano influenzate soltanto dal contenuto di Myverol, indipendentemente dalla natura (grassi puri o miscela di grassi) e dalla composizione della fase oleosa.

In conclusione di questa fase della ricerca svolta presso l'Università della Calabria si è potuto evidenziare che al di sopra di una concentrazione critica di Myverol (tra il 2% e il $3\%_{w/w}$), l'onset di cristallizzazione era indipendente sia dalle condizioni cinematiche (stazionarie o dinamiche) che dalla composizione dei grassi. Inoltre la T_{co} si sovrapponeva alla gelificazione dell'olio e, per un alto contenuto di Myverol, raggiungeva un valore quasi costante (indipendentemente dall'organogelatore). Per concentrazioni più basse, i fenomeni di cristallizzazione e di potenziale gelificazione sembravano essere dipendenti dalla composizione della fase oleosa (cioè dal contenuto in grassi saturi). La fase grassa cristallina composta da olio d'oliva/burro di cacao/Myverol potrebbe essere usata come fase oleosa strutturata, poiché può avere proprietà controllate nella produzione e stabilizzazione di emulsioni W/O; il punto di fusione potrebbe essere regolato dall'aggiunta di un giusto quantitativo di organogelatore, mentre la consistenza finale potrebbe essere modificata tramite un controllo delle caratteristiche reologiche (rapporto

tra grassi saturi e insaturi) della fase grassa. Con lo scopo di produrre grassi dietetici a basso contenuto di colesterolo, si potrebbe stimare l'adeguata quantità di burro di cacao come funzione del quantitativo di organogel adottato. Inoltre, le temperature critiche (sia di cristallizzazione che di gelificazione), essendo principalmente dipendenti dalla concentrazione di Myverol, potrebbero essere progettate quasi indipendentemente dalla consistenza desiderata. I risultati ottenuti hanno consentito di comprendere meglio i fenomeni della cristallizzazione della fase continua strutturata di emulsioni W/O alimentari e di vagliare le condizioni operative adatte alla realizzazione di prodotti commerciali salubri.

In conclusione, i risultati del mio lavoro di dottorato contribuiscono, seppur parzialmente, alla realizzazione di una nuova metodica che garantisca la produzione di un grasso alimentare con caratteristiche salubri, aiutando così la popolazione a ridurre l'obesità e i casi di sovrappeso negli adulti, ma soprattutto nei bambini. Si potrebbe in questo modo controllare l'incidenza delle patologie cardiovascolari, diabetiche e ipertensive oltre ad alcune forme di cancro.

BIBLIOGRAFIA

Abismaïl B., Canselier J.P., Wilhelm A.M., Delmas H., Gourdon C.. Emulsification by ultrasound: drop size distribution and stability. 1999. *Ultrasonics Sonochemistry* 6, 75-83.

Afoakwa E. O., Paterson A., Fowler M., Vieira J.. Influence of tempering and fat crystallization behaviour on microstructural and melting properties in dark chocolate systems. 2009. *Food Research International* 42, 200-209.

Ahmed N. S., Nassar A. M., Zaki N. N., Gharieb H. K.. Formation of fluid heavy oil-in-water emulsions for pipeline transportation. 1999. *Fuel*, 78, 593-600.

Ambrosone L., Mosca M., Ceglie A.. Impact of edible surfactants on the oxidation of olive oil in water-in-oil emulsions. *Food Hydrocolloids*. 2007. 21, 1163-1171.

Azadmard-Damirchi S.. Olive Oil - Phytosterols, Tracing of Adulteration with Hazelnut Oil and Chemical Interesterification. 2007. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae* 2007, 36.

Barnes H.A., Hutton J.F., Walters K. *An Introduction to Rheology*. 1989. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, NL.

Bibette J., Leal Calderon F., Poulin P.. Emulsions: basic principles. 1999. *Rep. Prog. Phys.* 62, 969-1033.

Blanco Muñoz M. A.. Olive oil in food spreads. 2004. *Grasas y Aceites* 55, 92-94.

Blijdenstein T.B.J., Veerman C., van der Linden E.. Depletion-Flocculation in Oil-in-Water Emulsions Using Fibrillar Protein Assemblies. 2004a. *Langmuir*, 20, 4881-4884.

Blijdenstein T.B.J., Zoet F.D., van Vliet T., van der Linden E., van Aken G.A.. Dextran-induced depletion flocculation in oil-in-water emulsions in the presence of sucrose. 2004b. *Food Hydrocolloids* 18, 857-863.

Borwankar R.P., Frye L. A., Blaurock A.E., Sasevich F.J.. Rheological characterization of melting of margarines and tablespreads. 1992. *Journal of food engineering* 16, 55-74.

Bot A., den Adel R., Roijers E. C., Regkos C.. Non-triglyceride structuring of edible oils: tubules in sterol + γ -oryzanol-based organogels. 2009. *Proceeding of the 5th International Symposium on Food Rheology and Structure*, Zurich 15- 18 June, 224-228.

Buffo R. A., Reineccius G. A.. Modeling the rheology of concentrated beverage emulsions. 2002. *Journal of Food Engineering* 51, 267-272.

Calligaris S., Da Pieve S., Arrighetti G., Barba L.. Effect of the structure of monoglyceride-oil-water gels on aroma partition. 2010. *Food Research International*, 43, 671-677.

Cappelli P., Vannucchi V.. *Chimica degli Alimenti: conservazione e trasformazione*. 2000. Zanichelli ed.

Carretti E., Dei L., Weiss, R. G.. Soft matter and art conservation. Rheoreversible gels and beyond. 2005. *Soft Matter*, 1(1), 17-22.

Chanamai R. and McClements D.J.. Depletion Flocculation of Beverage Emulsions by Gum Arabic and Modified Starch, *Journal of Food Science*. 2006. 66, 457-463.

Clogston J., Rathman J., Tomasko D., Walker H., Caffrey M.. Phase behaviour of a monoacylglycerol (Myverol 18-99K)/water system. 2000. *Chemistry and Physics of Lipids* 107, 191-220.

Constantinides, P. P., Yiv S. H. . Particle size determination of phase-inverted water-in-oil microemulsions under different dilution and storage conditions. 1994. *International Journal of Pharmaceutics* 115, 225-234.

Coupland J.N.. Crystallization in emulsions. 2002. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 7, 445-450.

Criado M., Hernández-Martín E., López-Hernández A., Otero C.. Enzymatic interesterification of extra virgin olive oil with a fully hydrogenated fat: characterization of the reaction and its products. 2007. *Journal of American Oil Chemistry Society*, 84,717-726.

Da Pieve S., Calligaris S., Co E., Nicoli M. C., Marangoni A. G.. Shear nanostructuring of monoglyceride organogels. 2010. *Food Biophysics*, 5, 211-217.

Dickinson E.. Hydrocolloids at surfaces and the influence on the properties of dispersed system. 2003. *Food Hydrocolloids*, 17, 25-39.

Dickinson E.. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. 2009. *Food Hydrocolloids* 23, 1473–1482.

do Amaral M.. Assessing the environmental cost of recent progresses in emulsion polymerization. 2004. *Reactive & Functional Polymers* 58, 197-202.

Duffy N., Blonk H. C. G., Beindorff C. M., Cazade M., Bot A., Duchateau G. S. M. J. E. Organogel-based emulsion systems, micro-structural features and impact on in vitro digestion. 2009. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86, 733-741.

Eastoe J. *Surfactant Aggregation and Adsorption at Interfaces in Colloid Science – Principles, Methods and Applications*, Cosgrove T. (Ed). 2005. Blackwell Publishing Ltd, 9600 Garsington Road, Oxford OX4 2DQ, (UK), 50-76.

Eccleston G. M. Function of mixed emulsifiers and emulsifying waxes in dermatological lotions and creams. 1997. *Colloids and surfaces A*, 123-124, 169-182.

Ferry J.D.. *Viscoelastic properties of polymers*. 1980. John Wiley and sons, New York.

Fessas D., Signorelli M., Schiraldi A.. Polymorphous transitions in cocoa butter a quantitative DSC study. 2005. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, Vol. 82, 691-702.

Fingas M. and Fieldhouse B.. Studies on crude oil and petroleum product emulsions: Water resolution and rheology. 2009. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 333, 67-81.

Förster A. H., Herrington T. M.. Rheology of two commercial available cosmetic oil in water emulsion. 1998. *International Journal of Cosmetic Science* 20, 317-326.

Frasch-Melnik S., Spyropoulos F., Bakalis S., Norton I.. Fat crystal-stabilized W/O emulsions for controlled salt release. 2009. *Proceeding of the 5th International Symposium on Food Rheology and Structure*, Zurich 15 – 18 June, 530-532.

Friberg S. E., Larsson K.. *Food emulsions*. – Third Edition, Revised and Expanded. 1976. Marcel Dekker, Inc. – New York Basel.

Friberg S.E.. *Emulsion Stability* in S.E. Friberg, K. Larsson, *Food Emulsions*, 3rd ed.. 1997. Marcel Dekker Inc.

Gabriele D., de Cindio B., D'Antona, P.. A weak gel model for foods. 2001. *Rheol. Acta* 40, 120-127.

Gabriele D., Migliori M., Lupi F.R., de Cindio B.. Rheological study of o/w concentrated model emulsions for heavy crude oil transportation. 2009. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, in press.

Garti N., Binyamin H., Aserin A.. Stabilization of Water-in-Oil Emulsions by Submicrocrystalline α -Form Fat Particles. 1998. Journal of American Oil Chemists Society, 75, 1825-1831.

Ghotra B.S., Dyal S.D., Narine S.S.. Lipid shortenings: a review. 2002. Food Research International, 35, 1015-1048.

Goldstein A. e Seetharaman K.. Effect of a novel monoglyceride stabilized oil in water emulsion shortening on cookie properties. 2011. Food Research International, 44, 1476-1481.

Gronwald O., Snip E., Shinkai S.. Gelators for organic liquids based on selfassembly: A new facet of supramolecular and combinatorial chemistry. 2002. Current Opinion in Colloid and Interface Science, 7, 148-156.

Gu Y. S., Decker E.A., McClements D. J.. Influence of pH and carrageenan type on properties of b-lactoglobulin stabilized oil-in-water emulsions. 2005. Food Hydrocolloids 19, 83-91.

Guo J., Liu Q., Li M., Wu Z., Christy A. A.. The effect of alkali on crude oil/water interfacial properties and the stability of crude oil emulsions. 2006. Colloids and Surfaces A, 273, 213-218.

Hatakeyama T., Quinn F.X.. Thermal Analysis: Fundamentals and Applications to Polymer Science. Second Edition. 1999. John Wiley & sons, 1-44.

Hee Lee J., Akoh C. C., Himmelsbach D. S., Lee K-T.. Preparation of Interesterified Plastic Fats from Fats and Oils Free of Trans Fatty Acid. 2008. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56, 4039-4046.

Hindle S., Povey M.J.W., Smith K.. Kinetics of crystallization in n-hexadecane and cocoa butter oil-in-water emulsions accounting for droplet collision-mediated nucleation. 2000. Journal of Colloid and Interface Science 232, 370-380.

Hughes N. E., Marangoni A. G., Wright A. J., Rogers M. A., Rush J. W. E.. Potential food applications of edible oil organogels. 2009. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 470-480.

Jahaniaval F. Process for preparing high liquid oil, no trans, very low saturates, regular margarine with phospholipids. 2005. patent US 2005/0233056 A1, international classification A23D007/00.

Johansson D., Bergenståhl B., Lundgren E.. Wetting of fat crystals by triglyceride oil and water. 1. The effect of additives. 1995. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 72, 921-931.

Kim T. H., Kim D. G., Lee M., Lee T. S.. Synthesis of reversible fluorescent organogel containing 2-(2'-hydroxyphenyl) benzoxazole: Fluorescence enhancement upon gelation and detecting property for nerve gas stimulant. 2010. *Tetrahedron*, 66, 1667-1672.

Kim I-H, Lee S-M, Lee B-M, Park H-K, Kim J-Y, Kwon K-I, Kim J-W, Lee J-S, Kim Y-H. Interesterification of Olive Oil with a Fully Hydrogenated Fat in a Batch Reactor Using Step Changes in Temperature. 2009. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 56, 5942-5946.

Knoth A., Scherze I., Muschiolik G.. Stability of water-in-oil-emulsions containing phosphatidylcholine-depleted lecithin. 2005. *Food Hydrocolloids* 19, 635-640.

Kokini J., van Aken G. Discussion - Discussion session on food emulsions and foams. 2006. *Food Hydrocolloids* 20, 438-445.

Lapasin R. e Prici S.. *Rheology of industrial polysaccharides: Theory and applications* (1st ed.). 1995. Glasgow: Blackie Academic and Professional .Chapter 4.

Leal-Calderon F., Thivilliers F., Schmitt V.. Structured emulsions. 2007. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 12, 206-212.

Lipp M. and Anklam E.. Review of cocoa butter and alternative fats for use in chocolate-
Part A. Compositional data. 1997. *Food Chemistry*, 62, 73-97.

Lupi F. R.. Rheology of highly concentrated in oil emulsions. 2010. Tesi di
Dottorato, Università della Calabria.

Lupi F. R., Gabriele D., de Cindio B., Sánchez M. C., Gallegos C.. A rheological analysis
of structured water in olive oil emulsions. 2011. *Journal of Food Engineering*, 107, 296-
303.

Lupi F.R., Gabriele D., de Cindio B.. Effect of shear rate on crystallisation phenomena in
olive oil based organogels, 2012. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 2880-2888, DOI:
10.1007/s11947-011-0619-2.

Macierzanka A., Szelaĝ H., Szumała P., Pawłowicz R., Mackie A. R., Ridout M.J.. Effect
of crystalline emulsifier composition on structural transformations of water in oil
emulsions: Emulsification and quiescent conditions. 2009. *Colloids and Surfaces A:
Physicochem. Eng. Aspects* 334, 40-52.

Macrae A.R.. Lipase-Catalyzed Interesterification of Oils and Fats. 1983. *Journal of the
American Oil Chemists Society*, 60, 291-294.

Mandala I.G., Savvas T.P., Kostaropoulos A.E.. Xanthan and locust bean gum influence on
the rheology and structure of a white model-sauce. *Journal of Food Engineering*. 2004. 64,
335-342.

Marangoni A. G., Idziak S. H. J., Vega C., Batte H., Ollivon M., Jantzi P. S. et al..
Encapsulation-structuring of edible oil attenuates acute elevation of blood lipids and
insulin in humans. 2007. *Soft Matter*, 3, 183-187.

Marangoni A. G.. Novel strategies for nanostructuring liquid oils into functional fats. 2009. Proceeding of the 5th International Symposium on Food Rheology and Structure. Zurich 15-18 June, 38-46.

Marti I., Höfler O., Fischer P., Windhab E.. Rheology of concentrated suspensions containing mixtures of spheres and fibres. 2005. Rheol Acta, 44, 502-512.

Masmoudi H., Piccerelle P., Le Dréau Y., Kister J.. A rheological method to evaluate the physical stability of Highly viscous pharmaceutical oil-in-water emulsions. 2006. Pharmaceutical Research, 23, 1937-1947.

Mazzanti G., Guthrie S. E., Marangoni A. G., Idziak S. H. J.. A conceptual model for shear-induced phase behavior in crystallizing cocoa butter. 2007. Crystal Growth e Design, 7, 1230-1241.

Mazzanti G., Marangoni A. G., Idziak S. H. J.. Modeling phase transitions during the crystallization of a multicomponent fat under shear. 2005. Physical Review E, 71, 041607-1-041607-12.

McClements D.J.. *Food Emulsions - Principles, Practice and Techniques*, CRC Press, New York. 1999. Chapter 1.

Miller D., Wiener E.M., Turowski A., Thunig C., Hoffmann H.. O/W emulsions for cosmetics products stabilized by alkyl phosphates – rheology and storage tests. 1999. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 152, 155-160.

Mudge E. M. e Mazzanti G.. Rheo-NMR measurements of cocoa butter crystallized under shear flow. 2009. Crystal Growth e Design, 9, 3111-3118.

Narine S. S., Marangoni A. G.. Relating structure of fat crystal networks to mechanical properties: a review. 1999. Food Research International 32, 227-248.

Norton I.T., Spyropoulos F., Alex E., Heuer K., Le Reverend B.J.D., Cox P.W.. Microstructure engineering of healthy everyday foods. 2009. Proceeding of the 5th International Symposium on Food Rheology and Structure, Zurich 15- 18 June, 10-16.

Ojijo N. K. O., Neeman I., Eger S., Shimoni E.. Effects of monoglyceride content, cooling rate and shear on the rheological properties of olive oil/monoglyceride gel networks. 2004. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84, 1585-1593.

Pal R.. A novel method to correlate emulsion viscosity data. 1998a. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 137, 275-286.

Pal R.. Short communication-Scaling of viscoelastic properties of emulsions. 1998b. Chemical Engineering Journal 70, 173-178.

Pal R. Rheology of double emulsions. 2007. Journal of Colloid and Interface science 307, 509-515.

Pernetti M., van Malssen K. F., Flöter E., Bot A.. Structuring of edible oils by alternatives to crystalline fat. 2007a. Current opinion in Colloid and Interface Science, 12, 221-231.

Pernetti M., van Malssen K., Kalnin D., Flöter E.. Structuring edible oil with lecithin and sorbitan tri-stearate. 2007b. Food Hydrocolloids, 21, 855-861.

Ramli M.R., Lin S.W., Yoo C.K., Idris N.A., Sahri M.M.. Physico-chemical Properties and Performance of High Oleic and Palm-Based Shortenings. 2008. Journal of oleo science, 57, 605-612.

Rao M. A. *Rheology of fluid and semisolid foods—Principles and applications (1st ed.)*. 1999. Gaithersburg: Aspen Publishers. Chapter 6.

Riley J. *Charge in Colloidal Systems in Colloid Science – Principles, Methods and Applications*, Cosgrove T. (Ed), 2005. Blackwell Publishing Ltd, 9600 Garsington Road, Oxford OX4 2DQ, (UK), 14-35.

Robins M. M.. Lipid emulsions. *Grasas y Aceites*, 2000. 51, 26-34.

Rodríguez-Abreu C., Lazzari M.. Emulsions with structured continuous phases. 2008. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 13, 198-205.

Rogers M. A., Wright A. J., Marangoni A. G.. Oil organogels: The fat of the future? 2009. *Soft Matter*, 5, 1594-1596.

Romero A., Cordobés F., Puppo M.C., Guerrero A., Bengoechea C.. Rheology and droplet size distribution of emulsions stabilized by crayfish flour. 2008. *Food Hydrocolloids* 22, 1033-1043.

Rousseau D.. Fat crystals and emulsion stability - a review. 2000. *Food Research International* 33, 3-14.

Sajjadi S.. Effect of mixing protocol on formation of fine emulsions. 2006. *Chemical Engineering Science*, 61, 3009-3017.

Salager J.L., Forgiarini A.F., Márquez L., Peña A., Pizzino A., Rodriguez M. P., Rondón-González M.. Using emulsion inversion in industrial process. 2004. *Advances in Colloid and Interfaces Science* 108, 259-272.

Salas J. J., Bootello M. A., Martínez-Force E., Garcés R.. Production of stearate-rich butters by solvent fractionation of high stearic-high oleic sunflower oil. 2011. *Food Chemistry*, 124, 450-458.

Sanier A., Hénaut I., Argillier J.F.. Pipeline Transportation of Heavy Oils, a Strategic, Economic and Technological Challenge. 2004. *Oil & Gas Science and Technology*, 59, 455-465.

Satgé C., Granet R., Verneuil B., Champavier Y., Krausz P. Synthesis and properties of new bolaform and macrocyclic galactose-based surfactants obtained by olefin metathesis. 2004. *Carbohydrate Research* 339, 1243-1254.

Schelero N., Lichtenfeld H., Zastrow H., Möhwald H., Dubois M., Zemb T.. Single particle light scattering method for studying aging properties of Pickering emulsions stabilized by catanionic crystals. 2009. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 337, 146-153.

Schenk H., Peschar R.. Understanding the structure of chocolate. 2005. *Radiation Physics and Chemistry* 71, 829-835.

Schwering R., Blom A., Warr G.G.. Laterally nanostructured adsorbed layers of surfactant/surfmer mixtures before and after polymerization. 2008. *Journal of Colloid and Interface Science* 328, 227-232.

Sherman P.. The influence of emulsifying agent concentration on emulsion viscosity. 1959. *Kolloid-Zeitschrift*, 165, 156-161.

Singh H., Tamehana M., Hemar Y., Munro P.A., (2003). Interfacial compositions, microstructures and properties of oil-in-water emulsions formed with mixtures of milk proteins and k-carrageenan: 1. Sodium caseinate, *Food Hydrocolloids* 17, 539–548

Singh D., Rezac M. E., Pfromm P. H.. Partial hydrogenation of soybean oil with minimal trans-fat production using a Pt-Decorated polymeric membrane reactor. 2009. *J Am Oil Chem Soc*, 86, 93-101.

Skogerson L., Boutte T., Robertson J., Zhang F.. Non-hydrogenated vegetable oil based margarine for puff pastry containing an elevated diglycerides emulsifier. 2007. USPTO Patent Application 20070148313, Class: 426602000 (USPTO).

Steffe J.F.. *Rheological methods in food process engineering*. 1996. Freeman Press, Michigan.

Tanner R.I. *Engineering Rheology*. 1985. Clarendon Press, Oxford.

Tarabukina E., Jago F., Haudin J.M., Navard P., Peuvrel-Disdier E.. Effect of shear on the rheology and crystallization of palm oil. 2009. *Journal of Food Science*, 74, E405-E416.

Toda K., Furuse H.. Extension of Einstein's viscosity equation to that for concentrated dispersion of solutes and particles. 2006. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 102, 524-528.

Toro-Vazquez J. F., Morales-Rueda J., Ajay Mallia,V., Weiss R. G.. Relationship between molecular structure and thermo-mechanical properties of candelilla wax and amides derived from (R)-12-Hydroxystearic acid as gelators of safflower oil. 2010. *Food Biophysics*, 5, 193-202.

Vincent B. *Introduction to Colloidal Dispersion in Colloid Science – Principles, Methods and Applications*, Cosgrove T. (Ed). 2005. Blackwell Publishing Ltd, 9600 Garsington Road, Oxford OX4 2DQ, (UK), 1-13.

Walther B., Cramer C., Tiemeyer A., Hamberg L., Fischer P., Windhab E. J., Hermansson A.M.. Drop deformation dynamics and gel kinetics in a co-flowing water-in-oil system. 2005. *Journal of Colloid and Interface Science* 286, 378-386.

Wiederman L. H.. Margarine and Margarine Oil, Formulation and Control. 1978. *Journal Of The American Oil Chemists Society*, 55, 823-829.

Wierenga A., Philipse A.P., Lekkerkerker H.N.W.. Aqueous Dispersions of Colloidal Boehmite: Structure, Dynamics, and Yield Stress of Rod Gels. 1998. *Langmuir*, 14, 55-65.

Winter H. H. *Gel Point*. 1989. In H. F. Mark, N. M. Bikales, C. G. Overberger, G. Menges (Eds.), *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering* (pp. 343–351). (2nd ed.). New York: John Wiley and Sons Supplement volume.

Zaki N. N.. Surfactant stabilized crude oil-in-water emulsions for pipeline transportation of viscous crude oils. 1997. *Colloids and Surfaces A*, 125, 19-25.

Zhou L., Chen H., Jiang X., Lu F., Zhou Y., Yin W., Ji X.. Modification of montmorillonite surfaces using a novel class of cationic gemini surfactants. 2009. *Journal of Colloid and Interface Science* 332, 16-21.

Pubblicazioni:

Migliori M., Gabriele D., Checchetti A., **Facciolo D.**, Battipede B.. Effect of water addition on pectin recovery from solution in centrifugal separation process. 2011. International Journal of Food Science and Technology, 46, 116-121.

Lupi F.R., Gabriele D., **Facciolo D.**, Baldino N., Seta L., de Cindio B.. Effect of organogelator and fat source on rheological properties of olive oil-based organogels. 2012. Food Research International, 46, 177-184.

Atti di convegno:

Migliori M., Gabriele D., Checchetti A., **Facciolo D.**, de Cindio B., Battipede B.. Effect of dilution on pectine recovery in centrifugal separation. Atti del convegno "Polymerfest", Palermo, 30 agosto-2 settembre 2009, pp. 253-254.